

Aus dem
Institut für Lebensmittelhygiene
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Inaktivierung von *Salmonella* Typhimurium und *Yersinia enterocolitica* auf Schwarte
und Schweinelachs mittels gepulsten Lichts**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Franziska Koch
aus Parchim

Leipzig, 2020

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Dr. Thomas Vahlenkamp

Betreuer: Prof. Dr. Peggy G. Braun

Gutachter: Prof. Dr. Peggy G. Braun, Institut für Lebensmittelhygiene,
Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig, Leipzig

Prof. Dr. Thomas Alter, Institut für Lebensmittelsicherheit und –hygiene,
Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin, Berlin

Tag der Verteidigung: 20.10.2020

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	III
1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	3
2.1 Gepulstes Licht und gesetzliche Rahmenbedingungen.....	3
2.2 Wirk- und Reparaturmechanismen, Resistenzbildung und Inaktivierungskinetik	7
2.2.1 Photochemischer Effekt	7
2.2.2 Photoreaktivierung	8
2.2.3 Photothermischer Effekt	8
2.2.4 Physikalischer Effekt	9
2.2.5 Resistenzbildung	9
2.2.6 Inaktivierungskinetik	9
2.3 Einflussparameter.....	10
2.3.1 Mikroorganismus.....	10
2.3.2 Zeitpunkt der Bestrahlung	12
2.3.3 Matrix	12
2.4 Gepulstes Licht zur Inaktivierung von lebensmittelassoziierten Erregern in Fleischwaren	13
2.5 Zielstellung dieser Arbeit.....	17
3 VERÖFFENTLICHUNG	18
3.1 Eigenanteil zur Veröffentlichung	18
3.2 Publikation	18
4 ÜBERGREIFENDE DISKUSSION	46
4.1 Eignung des Verfahrens „Gepulstes Licht“ zur Dekontamination von Schwarte und Schweinelachs.....	46
4.2 Vergleich von GL mit anderen Dekontaminationsverfahren	49
4.2.1 Chemische Dekontamination.....	49
4.2.2 Physikalische Dekontamination.....	49
4.2.3 Biologische Dekontamination	50

4.3	Alternativer Einsatz von GL.....	51
4.4	Schlussfolgerungen	51
5	ZUSAMMENFASSUNG	53
6	SUMMARY	55
7	LITERATURVERZEICHNIS.....	57
	ANHANG.....	66
	DANKSAGUNG.....	72

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

<i>A. niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
BfR.....	Bundesinstitut für Risikobewertung
BVL.....	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
cm ²	Quadratcentimeter
CW.....	continuous wave
D.....	Abstand zum Quartzfenster [cm]
DNS.....	Desoxyribonukleinsäure
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EFSA.....	European Food Safety Authority
EG.....	Europäische Gemeinschaft
EU.....	Europäische Union
f.....	Frequenz [Hz]
F.....	fluence [J/cm ²]
FDA.....	Food and Drug Administration
GL.....	gepulstes Licht
h.....	Stunde
Hz.....	Hertz
J.....	Joule
kg.....	Kilogramm
<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
m ³	Kubikmeter
mm.....	Millimeter
ms.....	Millisekunden
NACMCF.....	National Advisory Committee on Micro- biological Criteria for Foods
n.b.....	nicht bestimmt
nm.....	Nanometer
o.g.....	obengenannte

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

<i>P. fluorescens</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
PET	Polyethylenterephthalat
prr.....	pulse repetition rate
PUVD	pulsed UV disintegration
RKI	Robert Koch Institut
ROS	radical oxygen species
s	Sekunde
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>S. Enteritidis</i>	<i>Salmonella</i> Enteritidis
<i>S. Typhimurium</i>	<i>Salmonella</i> Typhimurium
t.....	Pulslänge [μ s]
t_{tot}	Bestrahlungszeit [s]
UV-Licht	ultraviolettes Licht
VO.....	Verordnung
<i>Y. enterocolitica</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
$^{\circ}\text{C}$	Grad Celsius
μg	Mikrogramm
μs	Mikrosekunden

1 EINLEITUNG

Die Salmonellose und Yersiniose sind in Deutschland und europaweit, nach der Campylobakteriose, die zweit- und dritthäufigsten bakteriellen Zoonosen beim Menschen (EFSA 2018; RKI 2018). Es handelt sich um klassische Lebensmittelinfektionen, welche zu einer akuten Enteritis mit Vomitus und Diarrhoe führen. Diese Erkrankungen sind meist selbst-limitierend, können aber vor allem bei Risikogruppen, wie Kleinkindern, älteren Erwachsenen, Schwangeren und Menschen mit einem defizienten Immunsystem (HIV-Patienten, Krebspatienten nach Chemotherapie) zu ernstzunehmenden Langzeitschäden wie „Erythema nodosum“, „reaktiver Arthritis“ oder, in sehr seltenen Fällen, sogar zum Tod führen. Im Jahr 2017 wurden 14.269 Salmonellosen und 2.586 Yersiniosen registriert, die auch mit dem Verzehr rohen Schweinefleisches in Verbindung gebracht werden konnten (RKI 2018). Schweinefleisch erfreut sich in Deutschland außerordentlicher Beliebtheit. Jeder Deutsche verzehrte im Jahr 2018 durchschnittlich 35,7 kg (STATISTA 2019). Viele Konsumenten bevorzugen dieses Produkt auch im Rohzustand als „Schweinemetz“ oder „Hackepeter“. Dies sowie ungenügend gekühlte und ungenügend durchgegarnte Schweinefleischerzeugnisse stellen ein erhöhtes Risiko dar, sich mit Salmonellen und/oder Yersinien zu infizieren. Im Rahmen von Planprobenuntersuchungen, im Jahr 2015, wurden in 2,1 % der Schweinefleischproben Salmonellen und in 10,5 % Yersinien nachgewiesen (BfR 2018). 38 % aller Salmonellosen wurden durch *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Serovar Typhimurium und 76 % aller Yersiniosen durch *Yersinia enterocolitica* O:3 ausgelöst (BfR 2018).

Gründe hierfür liegen am Eintrag in den Schlachtprozess, der über latent infizierte, symptomlose Trägiertiere erfolgt, die während der Schlachttier- und Fleischuntersuchung nicht detektiert werden (FREDRIKKSON-AHOMAA et al. 2000; NESBAKKEN et al. 2006; BONARDI et al. 2013; VANANTWERPEN et al. 2017). Allerdings scheiden sie, bedingt durch den Transportstress, die Erreger vermehrt mit den Fäzes aus (SEIDLER et al. 2001; LEYMAN et al. 2012; FERRER SAVALL et al. 2016). Während des Aufenthalts im Auslauf unmittelbar vor der Schlachtung, kommt es zur Übertragung auf bis dato gesunde Tiere (BERENDS et al. 1996; FERRER SAVALL et al. 2016). Des Weiteren können Erreger auch durch Kreuzkontaminationen während des Schlacht- und Zerlegeprozesses übertragen werden (BORCH et al. 1996; BERENDS et al. 1997; BOTTELDOORN et al. 2003; SCHERER et al. 2008; LAUKKANEN et al. 2009; VANANTWERPEN et al. 2017). Das repräsentative Zoonose-Monitoring 2015 zeigte, dass rund 10 % der Mastschweine (insbesondere Läufer, d.h. abgesetzte Schweine bis 30 kg) Träger von Salmonellen waren (BVL 2016). Untersuchungen ergaben eine Salmonellenprävalenz von 6,1 % in Blindarmkot und 2,9 % auf der Schlachtkörperoberfläche vor der Kühlung (entspricht einer Menge von 1.691.591 positiven Schlachtkörpern) (BVL 2018). Im Jahr 2017 wurden in Deutschland 58.330.743 Schweine geschlachtet, wodurch der Schweinefleischproduktion eine große Bedeutung für die deutsche Wirtschaft zukommt und besonders die Verbrauchersicherheit von großer Wichtigkeit ist (STATISTA 2019).

Schlachthofbetreiber in der Europäischen Union (EU) sind zu umfangreichen Hygienemaßnahmen verpflichtet [VO (EG) 853-854/2004] und müssen regelmäßig deren

EINLEITUNG

Erfolg durch mikrobiologische Untersuchungen nachweisen [VO (EG) 2073/2005]. Die Erkrankungszahlen deuten jedoch darauf hin, dass diese Maßnahmen nicht ausreichen, um eine verlässliche Erregereliminierung zu erzielen. Im Gegensatz zu Europa, wo derzeit noch keine Dekontaminationsverfahren am Schlachthof erlaubt sind, werden in den USA solche bereits routinemäßig angewendet. Hierzu zählen auch Lichtsysteme, wie gepulstes Licht (GL), welches aufgrund seiner physikalischen Eigenschaften (berührungslos, rückstandsfrei, umweltverträglich, wassersparend, schnell, geringe thermische Gesamtbelastung) viele Vorteile gegenüber anderen Verfahren bietet. Bislang liegen erste Daten zur Inaktivierung verschiedenster Erreger auf Fleischoberflächen vor, jedoch nicht für *S. Typhimurium* und *Y. enterocolitica*.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, Inaktivierungskinetiken von gepulstem Licht, bezüglich dieser beiden Erreger auf den Matrices Schwarte und Schweinelachs zu erarbeiten und anhand chemischer und sensorischer Untersuchungen die Applikabilität des Verfahrens abzuschätzen.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Gepulstes Licht und gesetzliche Rahmenbedingungen

Nach GÓMEZ-LÓPEZ et al. (2007) wird gepulstes Licht als Breitspektrumlicht mit einer Wellenlänge zwischen 200 und 1100 nm definiert, welches in Form sehr kurzer Lichtblitze (μ s) ausgesandt wird. Es umfasst kurzwelliges ultraviolettes Licht (UV-Licht), welches weiter in UV-A (315-380 nm), UV-B (280-315 nm) und UV-C (200-280 nm) unterteilt wird, sichtbares Licht (380-700 nm) sowie Nahinfrarot (700-1100 nm). Die Annahme, dass der UV-C Anteil die einzig wichtige Komponente für die keimabtötende Wirkung darstellt, wurde von KRAMER et al. (2015) widerlegt (ROWAN et al. 1999; WANG et al. 2005). Durch den Einsatz verschiedener Bandpassfilter, die bestimmte Wellenlängenbereiche ausschließen, konnten sie zeigen, dass UV-A und UV-B bei der Keimabtötung ebenfalls eine wichtige Rolle spielen. Untersuchungen von TAKESHITA et al. (2003) und WUYTACK et al. (2003) ergaben zudem, dass sowohl sichtbares Licht als auch der Infrarotanteil zu einer Reduktion von Mikroorganismen beitragen.

UV-C-Licht zur Lebensmittelkonservierung wurde bereits im Jahr 1930 entdeckt (GÓMEZ-LÓPEZ et al. 2007). Die klassische UV-C-Licht Behandlung arbeitet im kontinuierlichen Modus („Continuous Wave“, CW) und wird mittels Niederdruck-Quecksilber Lampen erzeugt, die monochromatisches Licht bei 254 nm erzeugen (BINTSIS et al. 2000). Teilweise werden auch Mitteldruck-Lampen benutzt, die einen höheren Energie-Output aufweisen und so polychromatisches Licht im Bereich von 200-300 nm aussenden können (GÓMEZ-LÓPEZ et al. 2007). Die kontinuierliche Bestrahlung mit UV-C Licht birgt den Nachteil, dass die Behandlung unverhältnismäßig lange dauern kann (30 min), um relevante Bakterienreduktionen von 2 log Stufen zu erzielen (WONG et al. 1998).

GL ist die Weiterentwicklung dieses Verfahrens. Es wird nur wenige Sekunden angewandt und spart damit Zeit und Energie. Je kürzer der Lichtblitz, desto höher ist seine Energie. Somit wird in erheblich kürzerer Zeit dieselbe Menge an Energie an die Matrix ausgesandt wie bei einer CW-Behandlung (DUNN 1996; KRAMER et al. 2017).

Laut WEKHOF (2000) und HEINRICH et al. (2016) sind erste Versuche mit Blitzlampen in den frühen 1970er Jahren in Japan durchgeführt worden. Das erste Patent wurde im Jahr 1984 von Hiramoto et al. angemeldet (HEINRICH et al. 2016). Die Rechte wurden 1988 von PurePulse Technologies (Tochtergesellschaft von Maxwell Technologies) gekauft und das System von DUNN im Jahr 1989 zunehmend weiterentwickelt und angepasst (PALMIERI und CACACE 2005; HEINRICH et al. 2016). Die erste Veröffentlichung zu Bakterienreduktionen mittels GL (6-7 log Stufen) stammt von BANK et al. 1990). Weitere Arbeiten zu keimabtötenden Effekten von GL führten 1996 zur Zulassung des gepulsten Lichts durch die Food and Drug Administration (FDA) (PALMIERI und CACACE 2005; HEINRICH et al. 2016). Die Rahmenbedingungen für die Anwendung werden im Code of Federal Regulations § 179.41 (1996) wie folgt definiert. GL darf in der Produktion, Verarbeitung und im Handling von Lebensmitteln unter folgenden Bedingungen angewandt

LITERATURÜBERSICHT

werden: i) das GL darf ausschließlich durch Xenon-Lampen mit einem Breitbandspektrum zwischen 200 und 1100 nm erzeugt werden, ii) die einzelnen Pulse dürfen nicht länger als 2 ms andauern und iii) die Gesamtenergie pro Behandlung darf maximal 12 J/cm² betragen. Des Weiteren darf iv) das Verfahren nur zur Kontrolle von Mikroorganismen auf der Lebensmitteloberfläche angewandt werden.

Derzeit ist in der EU und der Schweiz nur die Verwendung von Trinkwasser zur Entfernung von Oberflächenverunreinigungen von Erzeugnissen tierischen Ursprungs erlaubt [VO (EG) 853/2004]. Laut der [VO (EG) 853/2004 Artikel 3(2)] ist der Einsatz anderer Dekontaminationsverfahren nach Prüfung und Zulassung jedoch möglich. GL wird aufgrund seiner hohen Effizienz hierzulande bereits zur Entkeimung von Verpackungen, Trinkwasser und Luft eingesetzt (BINTSIS et al. 2000; SUN et al. 2009). Eine Zulassung für Lebensmittel in Europa/ Deutschland ist aktuell noch nicht erfolgt. Da das Verfahren einen hohen Anteil an UV-C Strahlung aufweist, wird es in Deutschland vermutlich unter die Lebensmittelbestrahlungsverordnung fallen und eine Zulassung nach § 8 LFGB Lebens- und Futtermittelgesetzbuch erfordern.

Zur Erzeugung des GL werden Breitband-Pulslampen verwendet. In Abbildung 1 ist der Aufbau einer gängigen Anlage dargestellt.

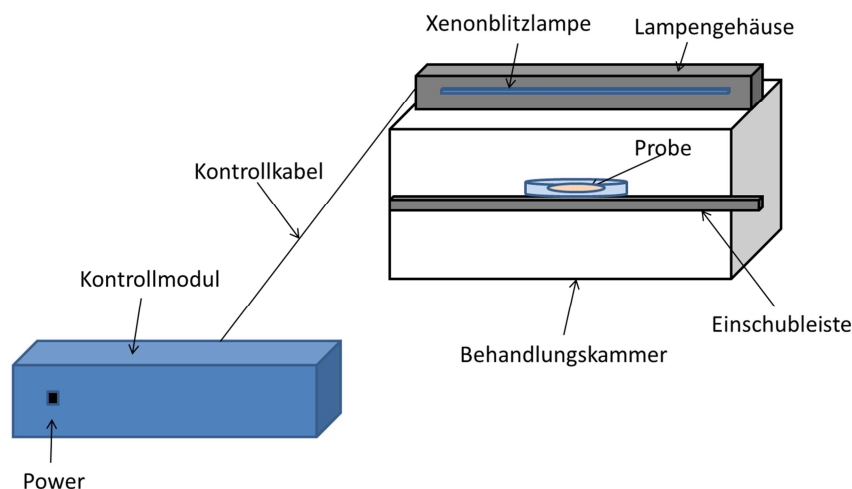


Abbildung 1: Schematische Darstellung einer gepulsten Lichtanlage im Labormaßstab modifiziert nach GÓMEZ LÓPEZ et al. (2007)

Das System besteht aus Behandlungskammer, Blitzlampe und Kontrollmodul (Energieerzeugungseinheit). Die Behandlungskammer ist aus rostfreiem Stahl und besitzt Einschubleisten an den Seiten für eine Halterung, die die Proben trägt und auf unterschiedlichen Abständen zur Licht-Quelle eingeschoben werden kann. Die Blitzlampen sind aus Quarz, sphärisch oder spiralg geformt und mit Xenon-, Krypton oder einem Edelgasgemisch gefüllt (PALMIERI und CACACE 2005; GÓMEZ-LÓPEZ et al. 2007; HEINRICH et al. 2016). Ein Kabel verbindet die Lichtquelle mit dem Kontrollmodul, in dem der Strom moduliert wird, um eine spezifische Pulsrate, Pulslänge und Spitzenleistung (peak power) zu erzeugen. Einige

LITERATURÜBERSICHT

Anlagen sind zusätzlich mit einem Lüfter ausgestattet, welcher die Lampe vor Überhitzung schützen und die Akkumulation von Ozon verhindern soll (JUN et al. 2003). Kurze Wellenlängen zwischen 170 und 200 nm sind hochenergetisch. Treffen diese auf Luftsauerstoff, kommt es zur Bildung von Trisauerstoff (O_3 , Ozon). Eine Exposition von Mitarbeitern sollte durch das Absaugen des Ozons oder Lampen, die diese Wellenlängen herausfiltern, verhindert werden. Da es als starkes Oxidationsmittel ab einer Konzentration von $200 \mu\text{g}/\text{m}^3$ toxisch wirkt, kann es Kopfschmerzen verursachen und Atemwege sowie Augen reizen (GÓMEZ-LÓPEZ et al. 2007; FARRELL et al. 2010; GÓMEZ et al. 2012).

Einige Pilotanlagen sind weitaus komplexer aufgebaut. HUFFMANN et al. (2000) schlossen drei PureBright Einheiten fest zusammen, um Wasser kontinuierlich zu behandeln.

Zur Erzeugung eines hochenergetischen Pulses elektromagnetischer Strahlung wird zunächst Wechselstrom aus der primären Energiequelle durch einen Stromumwandler in Direktstrom umgewandelt. Damit wird ein Kondensator bis zu einer gewissen Spannung aufgeladen und innerhalb von ms durch einen Hochspannungsschalter entladen. Der generierte Hochspannungsstrom regt das Gas in der Lampe, das sich zwischen zwei Elektroden, ummantelt von einer Glashülle, befindet, an (DUNN et al. 1995; PALMIERI und CACACE 2005; ELMNASSER et al. 2007). Die Elektronen der Gasatome werden auf ein höheres Energieniveau (E_2) gehoben und senden, sobald sie wieder auf das ursprüngliche Energieniveau zurückfallen (E_1), Licht aus (E). Abhängig vom Gas, welches angeregt wird, werden spezifische Wellenlängen ausgesandt. Diese Gesetzmäßigkeit findet sich in folgender Formel wieder:

$$E=E_2-E_1=hc/\lambda$$

wobei h Planck's Konstante ($6,23 \times 10^{-34}$ Js), c die Lichtgeschwindigkeit ($2,998 \times 10^8$ m/s) und λ die Wellenlänge der Strahlung (m) ist (GÓMEZ et al. 2012).

Zum besseren Verständnis der Technik müssen außerdem einige physikalische Größen definiert werden.

Fluence/ dt. Spezifische Leistung (F) [J/cm^2]:

beschreibt die totale Strahlenenergie, die von der Matrix pro Flächeneinheit während der Behandlung (in s) erhalten wurde. Die von der Blitzlampe ausgesandte Energie ist damit nicht gleichzusetzen. Je höher die Fluence, desto höher ist auch die Inaktivierung (GÓMEZ-LÓPEZ 2007).

Abstand:

Je kleiner der Abstand der Blitzlampe zur Matrix ist, umso höher ist auch die Inaktivierung (GÓMEZ-LÓPEZ et al. 2005a; OZER und DEMIRCI 2006; FARRELL et al. 2010). Allerdings ist der Wirkungsbereich hoher Energie ebenso enger, da sich der Lichtstrahl kegelförmig ausbreitet und die Intensität des Blitzes vom Zentrum zu den Seiten hin abnimmt (GÓMEZ-LÓPEZ et al. 2005a) (siehe Abbildung 2).

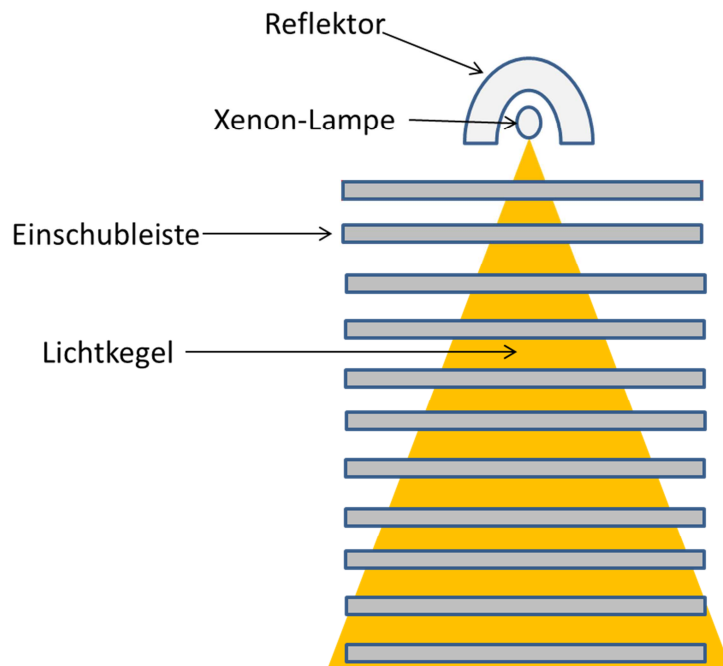


Abbildung 2: Ausbreitung des GL-Lichtkegels in Abhängigkeit vom Abstand zur Blitzlampe

Bei der Implementierung des Systems sollte eine gleichmäßige Bestrahlung der Matrix z.B. durch den Einsatz von Reflektoren (Aluminium), Fließbändern mit transparenten Abschnitten oder die Rotation der Matrix gewährleistet werden (LUKSIENE et al. 2007; SOMMERS et al. 2009; HSU und MORARU 2011).

Pulsanzahl (n):

Anzahl an Pulsen, die während der gesamten Behandlung abgegeben wurden.

Obwohl es eine Proportionalität zwischen der Anzahl der Pulse und der Reduktion gibt, kann ein einziger Puls hoher Energie mehr Erfolg bringen als mehrere Pulse geringerer Energie (ANDERSON et al. 2000).

Pulsdauer (t) in s:

Die Dauer eines Pulses oder Zeitintervalls, in welchem die Energie von der Lichtquelle geliefert wird.

Eine kurze Pulsdauer (1 μ s bis 0.1 s) ist von Vorteil und nötig, wenn eine schnelle Desinfektion erforderlich ist. Die Oberfläche des Bakteriums kann die auf sich wirkende

LITERATURÜBERSICHT

Energie in der kurzen Zeit nicht so schnell an die umliegende Lebensmittelmatrix abgeben und überhitzt (WEKHOF 2000). Die Lipidoxidation wird ebenfalls begrenzt, da die Halbwertszeit entstehender pi-Bindungen sehr kurz ist und diese sich nicht mit gelöstem oder freiem Sauerstoff verbinden können. Außerdem vermindert die geringe Pulsanzahl das Potential oxidativer Reaktionen (FINE und GERVAIS 2004).

Peak Power/ dt. Spitzenleistung in W:

Beschreibt das Verhältnis von Pulsenergie zu Pulsdauer (je kürzer der Puls, desto höher ist die Peak Power).

Je geringer die Pulslänge, desto mehr Energie wird pro Zeiteinheit geliefert (höhere peak power) und desto höher ist auch der bakterizide Effekt (HEINRICH et al. 2016).

Bestrahlungszeit ($t_{tot}=n*t$) in s:

Gesamtlänge der Behandlung

Frequenz ($f=1/t$) [Hz]:

Auch Pulswiederholungsrate genannt (prp) oder Pulse pro Sekunde beschreibt die Anzahl an Pulsen pro s.

2.2 Wirk- und Reparaturmechanismen, Resistenzbildung und Inaktivierungskinetik

Die antimikrobielle Wirkung des GL wird durch das Zusammenspiel mehrerer Mechanismen erreicht, welche nachfolgend näher erläutert werden.

2.2.1 Photochemischer Effekt

Der UV-C Anteil des GL, besonders im Bereich von 270 nm, bewirkt in der Bakterien-DNS die Zusammenlagerung benachbarter Basen (WANG et al. 2005). Es kommt zur Bildung von Pyrimidin-Dimeren (Thymin-Dimeren), (MITCHELL et al. 1992, GIESE und DARBY 2000). Während der Replikation erfolgt an diesen Stellen ein Kettenabbruch. Es kann keine neue Bakterienzelle mehr gebildet werden, was auch als „klonogener Tod“ bezeichnet wird (BOLTON und LINDEN 2003).

Eine untergeordnete Rolle spielt die Bildung von Cyclobutan-Pyrimidindimeren und Pyrimidin-Pyrimidon-Photoprodukten durch UV-B und die Entstehung radikaler Sauerstoffspezies (ROS) durch den Einfluss des UV-A Anteils (CADET et al. 2005; MATAALLANA-SURGET und WATTIEZ 2013). ROS interagieren mit der DNS, Proteinen und Lipiden und haben DNS-Veränderungen wie Basen- und Zuckerläsionen, Strangbrüche, DNS-Protein-Kreuzverbindungen und basen-freie Stellen zur Folge (DIZDAROGLU und JARUGA 2012). Bei Bakteriensporen entstehen im Zuge einer UV-C Bestrahlung

sogenannte „Sporen-Photoprodukte“ (5-Thyminy-5,6-dihydrothymine). Hinzu kommen Einzel- und Doppelstrangbrüche sowie Cyclobutan-Pyrimidindimere, welche jeweils durch UV-A und UV-B Licht verursacht werden (SLIEMAN und NICHOLSON 2000).

2.2.2 Photoreaktivierung

Die sogenannte „Photoreaktivierung“ bezeichnet das Rückgängigmachen von UV-C Schäden durch die Nutzung von UV-A Licht (CLEAVER 2003). Katalysiert wird dieser Vorgang durch das Enzym „Photolyase“, welches die, durch den photochemischen Effekt entstandenen, Cyclobutandimere oder Thymindimere wieder spaltet (KAO et al. 2005; WEBER 2005). Dieses Phänomen wurde auch im Zusammenhang mit GL und reversibel geschädigten Zellen beschrieben (OTAKI et al. 2003; GÓMEZ-LÓPEZ et al. 2005a; FARRELL et al. 2010) und resultiert in der Empfehlung, behandelte Produkte für mehrere Stunden (mind. 5 h) nach der Bestrahlung dunkel zu lagern (MACGREGOR et al. 1998; ROWAN et al. 1999; ANDERSON et al. 2000; GÓMEZ-LÓPEZ et al. 2005a; FARRELL et al. 2010; PASKEVICIUTE et al. 2011; LASAGABASTER und MARTINEZ DE MARANON 2014). Je nachdem, welche Keime reduziert werden und ob, bzw. welche Menge an Photolyase sie in der Zelle aufweisen, kommt dieser Effekt unterschiedlich stark zum Tragen.

Weitere Zellreparaturmechanismen sind die Dunkelreparatur und das Sporenreparatursystem, welche beide jedoch nur im Zusammenhang mit einer CW-Behandlung gezeigt wurden (SETLOW 1992; JUNGFER 2007).

2.2.3 Photothermischer Effekt

Als photothermischer Effekt wird die Überhitzung der Bakterienzelle durch die Bestrahlung mit GL bezeichnet, die zu einer Ruptur und zu strukturellen Veränderungen führt (CHEIGH et al. 2012; HEINRICH et al. 2016). Nach SUN et al. (2009) kann er als „sekundärer Effekt“ die Inaktivierung verstärken. WEKHOF (2000) und WEKHOF und TROMPETER (2001) konstatierten, dass ein Energieeintrag von über 0,5 J/m² zu einem Zerreißen der Zellmembran führt und belegten dies mit elektronenmikroskopischen Aufnahmen, in welchen eine Deformation und Ruptur von *A. niger* Sporen ersichtlich war. Auslöser für die Zellwandruptur ist der Unterschied der Wärmeabsorption zwischen Zelle und Umgebung. Die Bakterienzelle überhitzt, da ihre Energieabgabe geringer ist als die Energieaufnahme (WEKHOF 2000). Die spontane Verdunstung von Wasser (Bildung von Mikroblassen) verursacht zudem eine Ruptur der funktionellen Membranen und führt zum Austritt von Zellinhalt und zu einem Verschmelzen der Zelle mit der umliegenden Matrix (WEKHOF und TROMPETER 2001; TAKESHITA et al. 2003; CHEIGH et al. 2012). WEKHOF und TROMPETER (2001) illustrierten das Schmelzphänomen mittels elektronenmikroskopischer Aufnahmen von Sporen auf Verpackungsmaterial (PET, Schmelztemperatur 120 °C) und beschrieben die Zellruptur als „pulsed UV disintegration“ (PUVD).

2.2.4 Physikalischer Effekt

Einige Autoren diskutieren zusätzlich einen physikalischen Effekt. TAKESHITA et al. (2003) beobachteten nach der Bestrahlung von *S. cerevisiae* expandierte Vakuolen, verzerrte/beschädigte Zellmembranen und eine untypische runde Form sowie eine Auswaschung von Proteinen, wohingegen die Struktur von *S. cerevisiae* bei einer CW-Behandlung unverändert blieb. Bei Untersuchungen von WEKHOF (2000) und WEKHOF und TROMPETER (2001) konnten ähnliche Effekte gezeigt werden.

2.2.5 Resistenzbildung

Im Hinblick auf mögliche Resistenzbildungen der Mikroorganismen gegenüber GL existieren widersprüchliche Angaben in der Fachliteratur. GÓMEZ-LÓPEZ et al. (2005a) behandelten *L. monocytogenes* 13 Mal hintereinander. Im Anschluss an jeden Behandlungszyklus wurden überlebende Bakterienzellen erneut kultiviert und bestrahlt. Die Autoren konnten keine Ausbildung einer Resistenz nachweisen. Die Arbeitsgruppe um RAJKOVIC et al (2009) führten eine vergleichbare Studie mit *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 und *Campylobacter jejuni* durch. Sie behandelten Survivorzellen insgesamt 20 Mal und konnten für *L. monocytogenes* und *E. coli* O157:H7 eine deutliche Resistenzbildung gegenüber GL feststellen. Für *C. jejuni* ist diesbezüglich keine Aussage zu treffen, da das Bakterium bereits nach wenigen Behandlungszyklen nicht mehr anzüchtbar war. HEINRICH et al. (2016) beobachteten ebenfalls, dass *L. monocytogenes* nach 20 Behandlungszyklen mit subletalen Dosen um 1 log Stufe weniger reduzierbar war als die Kontrolle.

Auf molekularer Ebene wurde die Resistenzausbildung bei *Pseudomonas aeruginosa* und *Enterococcus faecalis* erforscht (MASSIER et al. 2012; MASSIER et al. 2013). Niedrige Dosen von GL führten zu einer vermehrten Transkription und Translation von Chaperon- und Phagenproteinen sowie einer erhöhten Mutationsrate, die mit einem Anstieg einer Rifampicin-Resistenz vergesellschaftet ist, womöglich, um die Bakterien vor einem erneuten GL-Stress zu schützen.

2.2.6 Inaktivierungskinetik

Die Inaktivierungskinetik von Bakterien mittels GL wurde mehrfach in der Literatur dargestellt. Die Abtötung verläuft dabei nicht linear, sondern sigmoidal (MARQUENIE et al. 2003; LUKSIENE et al. 2007; FARRELL et al. 2010). Der Kurvenverlauf wird in drei Phasen eingeteilt (siehe Abbildung 3):

LITERATURÜBERSICHT

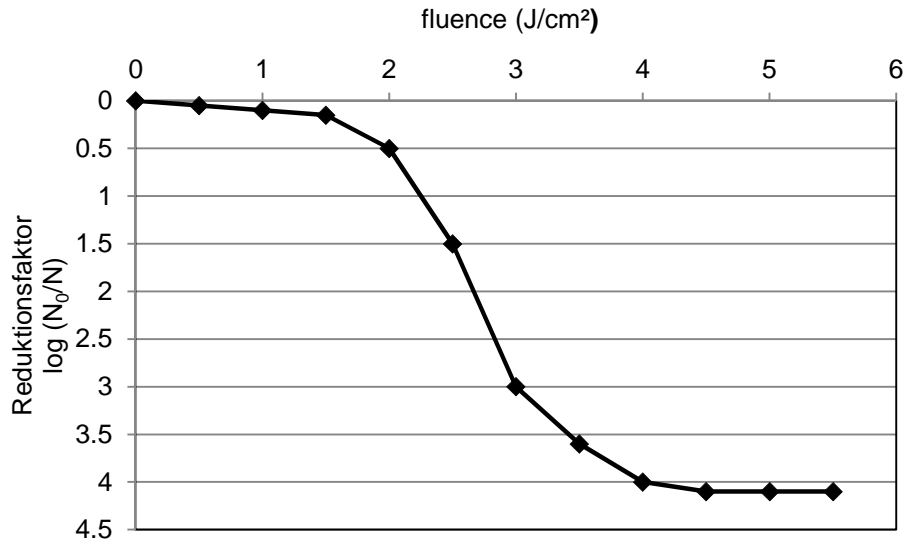


Abbildung 3: Kurvenverlauf einer Keimabtötung mittels gepulsten Lichts

i) die initiale Schulter - die Zellen werden zunächst nur geschädigt

ii) rapide abfallende Kurve (MACGREGOR et al. 1998; FINE und GERVAIS 2004; GÓMEZ-LÓPEZ et al. 2007) - durch Überschreiten eines bestimmten Energielevels (BARBOSA-CÁNOVAS et al. 2000; GÓMEZ-LÓPEZ et al. 2007; FARRELL et al. 2010) setzt ein schnelles Absterben der Zellen ein.

iii) Auslaufphase („tailing“) - die Inaktivierungskurve nähert sich der x-Achse asymptotisch an, da es trotz anhaltenden Energieeintrags zu keiner vollständigen Abtötung der Bakterien kommt. Begründet wird dies durch die Inhomogenität der Zellpopulation mit unterschiedlicher Empfindlichkeit gegenüber GL, unterschiedlich ausgeprägte Zellreparaturmechanismen, Abschattungseffekte durch die Wand der Petrischale oder Ritzen und Spalten in der bestrahlten Matrix (MCDONALD et al. 2000; YAUN et al. 2003, UESUGI et al 2007).

Allerdings treten auch abweichende Kurvenverläufe auf. Wenn die Energie von Beginn an hoch genug ist, konnte keine initiale Schulterphase gezeigt werden (FARRELL et al. 2010). Es wurde ebenso vom Fehlen der Auslaufphase oder von einer vollständigen Inaktivierung berichtet, allerdings ausschließlich bei Bakterien auf Agar-Platten (OTAKI et al. 2003; WANG et al. 2005; FARRELL et al. 2010).

2.3 Einflussparameter

2.3.1 Mikroorganismus

Bezüglich der Empfindlichkeit verschiedener Mikroorganismen gegenüber GL existieren unterschiedliche Angaben in der wissenschaftlichen Literatur. Die Mehrheit stellte eine

LITERATURÜBERSICHT

Abhängigkeit bezogen auf die **Phylogenie** und die **Zellwandstruktur** fest, ohne jedoch weitere Erklärungen dafür zu geben. Gram-negative Bakterien reagierten am empfindlichsten auf die Bestrahlung, wobei gram-positive Bakterien, schleim- und pigmentbildende Bakterien, Pilze und Sporen eine aufsteigende Resistenz aufwiesen (ROWAN et al. 1999; ANDERSON et al. 2000; FARRELL et al. 2010; LEVY et al. 2012; ESBELIN et al. 2013; HEINRICH et al. 2016). Die unterschiedliche Sensibilität von gram-negativen und gram-positiven Bakterien könnte dem unterschiedlichen Aufbau der Zellwand geschuldet sein. Gram-positive Bakterien verfügen über eine mehrlagige Peptidoglykanschicht, welche eine Dicke von 20-80 nm aufweist. Im Gegensatz dazu ist die Zellwand von gram-negativen Bakterien mit 1-2 nm sehr dünn (RAMOS-VILLARROEL et al. 2012). ANDERSON et al (2000) stellten zudem die Hypothese auf, dass die Umwelt, in der die Mikroorganismen normalerweise verbreitet sind, einen wichtigen Einfluss auf ihre unterschiedliche Resistenz gegenüber UV-Licht hat. Gram-positive Bakterien sind häufiger dem Sonnenlicht ausgesetzt als gram-negative Enterobakterien, die sich im dunklen Verdauungstrakt von Mensch und Tier aufhalten und somit weniger Resistenzmechanismen entwickelt haben. Pigmente und Schleim scheinen einen Teil des GL zu absorbieren und erhöhen somit die Resistenz von pigment- und schleimbildenden Bakterien sowie einiger Pilze und Pilzsporen (HEINRICH et al. 2016). Die sehr hohe Resistenz von Bakterienendosporen gegenüber GL ist neben der Nukleotid-exzisionsreparatur dem Vorhandensein einer Sporen-Photoprodukt-Lyase zuzuschreiben. Diese spaltet die Sporen-Photoprodukte wieder, welche durch das UV-C-Licht entstanden sind (SLIEMAN und NICHOLSON 2000).

GÓMEZ-LÓPEZ et al. (2005a) und RAJKOVIC et al. (2010) konnten hingegen keine Zellaufbau abhängigen Unterschiede in der Empfindlichkeit von Mikroorganismen gegenüber GL feststellen. Dies könnte sich aus dem unterschiedlichen Versuchsaufbau sowie den verschiedenen Spezies und Versuchsparametern ergeben (RAJKOVIC et al. 2010).

WEKHOF und TROMPETER (2001) berichtet außerdem über den Einfluss der Bakteriengröße auf die Inaktivierungseffizienz. Demnach sind kleine Bakterien aufgrund des größeren Verhältnisses von Volumen zu Oberfläche resistenter als große Bakterien, weil sie somit schneller wieder abkühlen (Verminderung des photothermischen Effekts). Die Arbeitsgruppe führte Versuche mit *A. niger* (kugelförmig, 3 µm Durchmesser) und *B. subtilis* (zylinderförmig, 2 µm lang und 0,5 µm Durchmesser) Sporen durch. Letztere wurden in geringerem Maße geschädigt (1-1,5 log Stufen weniger).

Die Autoren leiteten ebenfalls ab, dass die *A. niger* Sporen aufgrund ihrer größeren Oberfläche mehr UV-Licht absorbieren und daher mehr Energie ausgesetzt sind, die in der Lage ist, sie zu schädigen.

Ob die Zellzahl ebenfalls einen Einfluss auf die Inaktivierung hat, ist umstritten. Einige Autoren stellten fest, dass Zellzahlen $> 6.9 \log/\text{cm}^2$ zu Abschattungseffekten durch die Überlagerung mehrerer Zellschichten führen. Die oberen abgetöteten Zellen schützen die darunter liegenden vor dem GL, was zu einer reduzierten Inaktivierung führt (ANDERSON et al. 2000; GÓMEZ-LÓPEZ et al. 2005a; FARRELL et al. 2010; HEINRICH et al. 2016). Versuche mit *L. innocua* in Flüssigmedium haben gezeigt, dass der Reduktionserfolg

unabhängig von der Kontaminationsdosis ist und die Inaktivierungskurven fast identisch aussehen (UESUGI et al. 2007). Dieselbe Arbeitsgruppe stellte im Gegensatz dazu fest, dass auf rostfreiem Stahl die Inaktivierung auch mit höheren Kontaminationsdosen steigt. Allerdings wurde beobachtet, dass die Höhe der Survivorzellen gleichbleibend ist. Begründet wurde dies mit einer Art Aufsättigung der Spalten und Ritzen in dem verwendeten Material, in welchen die Bakterien Schutz vor dem GL finden. Da deren Anzahl begrenzt ist, überleben immer gleich viele Bakterien und der Rest wird entsprechend der Kontaminationsdosis abgetötet (UESUGI et al. 2007).

Das Nationale Beratungskomitee für mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel (NACMCF 2006) gibt zu bedenken, dass durch die Bestrahlung mit GL auch die natürliche Flora der Produkte reduziert wird, und im Falle einer Rekontamination keine Konkurrenzflora mehr vorhanden ist.

2.3.2 Zeitpunkt der Bestrahlung

Je länger sich die Bakterien auf der Oberfläche befinden, desto schwieriger sind sie anschließend zu eliminieren. Dies konnte für *L. monocytogenes* und *E. coli* O157:H7 auf rostfreiem Stahl gezeigt werden. Eine Bestrahlung innerhalb von 60 s nach der Inokulation resultierte in einer vollständigen Reduktion der beiden Erreger. Eine fünfminütige Inokulationsdauer führte bereits zu einem geringeren Inaktivierungserfolg, welcher nach einer einstündigen Einwirkzeit wiederum um die Hälfte reduziert wurde (RAJKOVIC et al. 2010). Befinden sich die Bakterien zum Zeitpunkt der Bestrahlung zudem bereits in der stationären Wachstumsphase, wird ihre Resistenz zusätzlich erhöht (GÓMEZ-LÓPEZ et al. 2005a).

2.3.3 Matrix

Transparente Flüssigkeiten wie Wasser und klare Säfte (Apfelsaft/Melonensaft) sind grundsätzlich gut mittels GL zu behandeln, da eine Abschwächung der Strahlung weitestgehend gering gehalten werden kann (HUFFMAN et al. 2000). Mit zunehmender Trübheit (Orangensaft, Erdbeersaft, Milch) nimmt die Effizienz ab. Dieser Umstand kann umgangen werden, indem die Flüssigkeit als wenige Millimeter dünne Schicht oder unter Bewegung (Umrühren) bestrahlt wird (SAUER und MORARU 2009, GÓMEZ-LÓPEZ et al. 2012; FERRARIO et al. 2015; KRAMER et al. 2017). Nicht-transparente Medien sind grundsätzlich schwieriger zu dekontaminieren, da GL nur eine Eindringtiefe von 2 µm aufweist und somit lediglich die Oberfläche entkeimt werden kann (ELMNASSER et al. 2007). Je dicker die zu bestrahlende Probe ist, desto geringer ist die Reduktion, da die Strahlung beim Durchdringen des Mediums abgeschwächt wird (HILLEGAS. und DEMIRCI 2003). Auf glatten Oberflächen können höhere Inaktivierungen erzielt werden. DUNN et al. (1995) reduzierten *S. aureus* auf Agarplatten um 7 log mit zwei Blitzen (1,5 J/cm²). In eigenen Untersuchungen auf Agarplatten (plate count) führte bereits ein Blitz (1.27 J/cm²) zu einer

Inaktivierung von *S. Typhimurium* um 6 log Stufen.

Je komplexer die Oberfläche wird, desto schwieriger gestaltet sich auch die Dekontamination. Ritzen und Unebenheiten führen zu Abschattungseffekten, die Reduktion sinkt (WOODLING und MORARU 2005; GÓMEZ-LÓPEZ et al. 2007).

Neben der Art der Matrix (fest, flüssig) und der Oberflächenkonfiguration (glatt, uneben) scheint die Matrixzusammensetzung für die Inaktivierung ebenfalls eine Rolle zu spielen. GÓMEZ-LÓPEZ et al. (2005a) konnten zeigen, dass Protein- und Ölzusätze die Inaktivierungseffizienz von Agar herabsetzen. Lebensmittel mit einem hohen Gehalt an Protein und Fett weisen somit ein geringes Dekontaminationspotential auf (RAJKOVIC et al. 2010). Bei einem Zusatz von Wasser und Stärke wurde hingegen kein negativer Einfluss gefunden. Gemüsesorten sollten sich demnach relativ gut zum Entkeimen mittels GL eignen. Dieser Effekt liegt laut HOLLÓSY (2002) darin begründet, dass Proteine und Fette das UV-Licht aufgrund von konjugierten Doppelbindungen verstärkt absorbieren. Dieses Phänomen tritt bei Kohlenhydraten nicht auf (GÓMEZ-LÓPEZ et al. 2005b).

2.4 Gepulstes Licht zur Inaktivierung von lebensmittelassoziierten Erregern in Fleischwaren

In der Lebensmittelverarbeitung wird GL noch nicht im industriellen Maßstab angewandt, allerdings haben sich zahlreiche Arbeitsgruppen mit der Anwendung auf verschiedenen Lebensmitteloberflächen beschäftigt.

In der folgenden Tabelle 1 (modifiziert nach HEINRICH et al. 2016) findet sich eine Auflistung mit wissenschaftlichen Arbeiten, in denen Fleisch oder Fleischerzeugnisse behandelt wurden (ausführliche Tabelle 2 mit Parametereinstellungen im Anhang). Die Reduktionen auf bisher untersuchtem Fleisch und Fleischerzeugnissen liegen zwischen 0,3 und 3,0 log-Stufen. Die besten Ergebnisse wurden auf roher Hähnchenbrust und geschnittener Salami erzielt. Aus der Tabelle ist kein eindeutiger Unterschied in der GL-Sensibilität zwischen den einzelnen Tierarten oder Fleischwaren abzulesen.

Sowohl auf rohem Fleisch als auch auf Fleischerzeugnissen verschiedenster Fleischsorten wird durchschnittlich eine 2 log-Inaktivierung erreicht. Jedoch scheint eine Dekontamination von Hähnchenhaut mit Ergebnissen von 0,3-1,0 log deutlich schwieriger zu sein (HAUGHTON et al. 2011). Auch auf Schweinefleisch bleiben die Resultate mit einer Reduktion von 1,0 log-Stufe deutlich unter dem Durchschnitt (NICORESCU et al. 2014). Dies kann im unterschiedlichen Versuchsaufbau, in der Verwendung unterschiedlicher GL-Anlagen und dem Bestrahlen mit unterschiedlichen Energien begründet liegen (siehe ausführliche Tabelle 2 im Appendix). Darüber hinaus, scheint die Verwendung einer Verpackung keinen Einfluss auf die Inaktivierungseffizienz zu haben (KEKLIK et al. 2010). Es bleibt hierbei nur zu beachten, Verpackungsmaterialien zu wählen, welche eine hohe Durchlässigkeit für UV-C Licht aufweisen (z.B. Polypropylen).

LITERATURÜBERSICHT

Tabelle 1: Übersicht der wissenschaftlichen Publikationen, in denen Fleisch oder Fleischerzeugnisse mit GL behandelt wurden
(modifiziert nach HEINRICH ET AL. 2016)

Lebensmittel	Bakterium	Reduktion (log)	Quelle
rohes Fleisch			
Hähnchenfleisch	<i>S. Typhimurium</i>	~2	KEKLIK et al. 2010
	<i>S. Typhimurium</i>	2,0	GUDELIS und LUKŠIENĖ 2010
	<i>L. monocytogenes</i>	2,0	
	<i>S. Typhimurium</i> DS88	2,0	PASKEVICIUTE et al. 2011
	<i>L. monocytogenes</i> ATCC L3C7644	2,4	
	aerobe mesophile Gesamtkeimzahl	2,0	
	<i>C. jejuni</i>	0,8	HAUGHTON et al. 2011
	<i>E. coli</i> ATCC25922	1,0	
	<i>S. Enteritidis</i> ATCC13076	1,3	
	aerobe mesophile Gesamtkeimzahl	1,8	
	Enterobacteriaceae	1,3	
	<i>S. Enteritidis</i>	2,4	MCLEOD et al. 2018
	<i>L. monocytogenes</i>	2,0	
	<i>S. aureus</i>	3,0	
	EHEC	2,9	
	<i>Pseudomonas</i> ssp.	3,0	
	<i>B. thermospacta</i>	3,0	
	ESBL-produzierende <i>E.coli</i>	2,8	
	<i>C. divergens</i>	1,8	
Schweinefleisch	aerobe mesophile Gesamtkeimzahl	1,0	NICORESCU et al. 2014
	<i>P. fluorescens</i>	1,0	

LITERATURÜBERSICHT

Lebensmittel	Bakterium	Reduktion (log)	Quelle
Rind-, Hähnchen-, Schweine-, Puten-, Reh-, Känguruh- und Kaninchenfleisch	n.b.	n.b.	TOMASEVIC 2015; TOMASEVIC und RAJKOVIC 2015
verpacktes rohes Fleisch			
vakuumverpackte Hähnchenbrust	<i>S. Typhimurium</i>	2,4	KEKLIK et al. 2010
Fleischerzeugnisse			
Chicken Wings	<i>Salmonella</i> ssp.	~2	DUNN et al. 1995
Frankfurter	<i>L. innocua</i>	~2	
Hähnchen-Frankfurter	<i>L. monocytogenes</i> Scott A	1,9	KEKLIK et al. 2009
Wiener Würste	<i>L. innocua</i> FSL C2-008	1,4	UESUGI und MORARU 2009
geschnittener Schinken	n.b.	n.b.	WAMBURA und VERGHESE 2011
Fleischerzeugnisse			
verzehrfsfertige Salchichón	<i>L. monocytogenes</i>	1,8	GANAN et al. 2013
	<i>S. Typhimurium</i>	1,5	
verzehrfsfertige Lende	<i>L. monocytogenes</i>	1,6	
	<i>S. Typhimurium</i>	1,7	
Schweinebraten	aerobe mesophile Gesamtkeimzahl	1,0	NICORESCU et al. 2014
	<i>P. fluorescens</i>	1,0	
Kochschinken, Speck, Pariser Wurst, Parmaschinken, fermentierte Wurst	n.b.	n.b.	TOMASEVIC und RAJKOVIC 2015

LITERATURÜBERSICHT

Lebensmittel	Bakterium	Reduktion (log)	Quelle
geschnittene Salami	<i>E. coli</i> O157:H7 <i>L. monocytogenes</i> <i>S. Typhimurium</i> <i>S. aureus</i>	2,2 2,3 2,3 2,1	RAJKOVIC et al. 2017
kaltgeräuchertes Schweinefleisch	Microkokken und Staphylokokken Schimmelpilze und Hefen Milchsäurebakterien <i>E. coli</i>	1,2 0,5 −0,1 n.b.	LIU et al. 2019
verpackte Fleischerzeugnisse			
vakuumverpackte Hähnchen-Frankfurter	<i>L. monocytogenes</i>	1,9	KEKLIK et al. 2009
vakuumverpackte Schinkenscheiben	<i>L. monocytogenes</i>	1,8	HIERRO et al. 2011
vakuumverpackte Bolognascheiben	<i>L. monocytogenes</i>	1,1	
vakuumverpacktes Rindercarpaccio	<i>L. monocytogenes</i> Scott A CIP 103575, Serotype 4b	0,9	HIERRO et al. 2012
	<i>E. coli</i> O157:H7 CECT 4972	1,2	
	<i>S. Typhimurium</i>	1,0	
Fleischhaut			
Hähnchenhaut	<i>C. jejuni</i>	0,6	HAUGHTON et al. 2011
	<i>E. coli</i> ATCC25922	0,8	
	<i>S. Enteritidis</i> ATCC13076	1,0	
	Enterobacteriaceae	0,3	

2.5 Zielstellung dieser Arbeit

Gepulstes Licht ist derzeit Gegenstand zahlreicher Forschungsarbeiten. Sein Potential als schonendes Dekontaminationsverfahren hat sich bereits vielfach bestätigt. Im Bereich der Schweineschlachttierkörperdekontamination könnte das Verfahren zu einer Verringerung der Keimbelastung und damit Verbesserung des Verbraucherschutzes beitragen.

Bis dato fehlen allerdings Daten zu wichtigen Zoonoseerregern wie *Salmonella* Typhimurium und *Yersinia enterocolitica*. Da der Reduktionserfolg abhängig von dem zu inaktivierenden Erreger und der zu bestrahlenden Matrix ist, war es Ziel dieser Arbeit, erstmalig die Inaktivierung beider Mikroorganismen auf Schwarte und Schweinelachs zu untersuchen und unter Bewertung chemischer und sensorischer Eigenschaften der Produkte die Anwendbarkeit des Verfahrens für die Praxis einzuschätzen.

Folgende Fragestellungen sollen in der vorliegenden Arbeit beantwortet werden:

- Führt die Anwendung von gepulstem Licht auf Schwarte und Schweinelachs zu einer signifikanten Reduktion von *S. Typhimurium* und *Yersinia enterocolitica*?
- Wird die sensorische Beschaffenheit der behandelten Produkte positiv/negativ beeinflusst (Geruch, Farbe, Fettoxidation)?

3 VERÖFFENTLICHUNG

3.1 Eigenanteil zur Veröffentlichung

Die Bearbeitung des Projektes fand am Institut für Lebensmittelhygiene der Universität Leipzig unter der Betreuung von Prof. Dr. Peggy G. Braun und Frau Dr. Claudia Wiacek statt. Das Versuchskonzept wurde zusammen mit den o.g. Personen erarbeitet.

Die Versuche wurden je nach Aufwand selbstständig oder mit der technischen Unterstützung von Frau Dr. Claudia Wiacek, Frau Steffi Berft und Frau Maike Moritz durchgeführt. Die Auswertung der Versuchsergebnisse erfolgte eigenständig.

Die statistische Auswertung erfolgte nach vorheriger Absprache mit Herrn Dr. Martin Köthe selbstständig.

Die Veröffentlichung (inklusive Abbildungen und Tabellen) wurde selbstständig verfasst, ihre Revision erfolgte in Zusammenarbeit mit Frau Prof. Dr. Peggy G. Braun und Frau Dr. Claudia Wiacek.

3.2 Publikation

Pulsed light treatment for the inactivation of *Salmonella* Typhimurium and *Yersinia enterocolitica* on pork skin and pork loin

publiziert in:

International Journal of Food Microbiology

2 March 2019, Volume 292, pp 64-71

Print ISSN:0168-1605

Int J Food Microbiol

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.11.014>

Original Paper

Pulsed light treatment for the reduction of *Salmonella* Typhimurium and *Yersinia enterocolitica* on pork skin and pork loin

Franziska Koch, Claudia Wiacek*, Peggy G. Braun

Institute of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig, An den Tierkliniken 1, 04103 Leipzig, Germany

* Author of correspondence: Claudia Wiacek, claudia.wiacek@vetmed.uni-leipzig.de, Tel. 0049 341 9738227; Fax: 0049 341 9738249

Keywords: Pulsed broad spectrum light, Microbial reduction, Pork, Lipid peroxidation, Sensory analysis

Abstract

The aim of the presented study was to investigate the impact of pulsed light on the reduction of *Salmonella* Typhimurium and *Yersinia enterocolitica* on pork skin and loin. Fluences of 0.52 to 19.11 J/cm² were applied to the pathogen-inoculated products to perform microbiological studies, as well as analyses of color, temperature, lipid peroxidation and odor. Reductions on pork skin ranged from 1.73 to 3.16 log for *Salmonella* and from 1.48 to 4.37 log for *Yersinia*. Microbial reduction was significantly lower on pork loin, varying between a minimum of 0.4 and a maximum of 1.7 log for both pathogens. Treatments ≥ 7.36 J/cm² modified the color parameters of pork skin and fluences ≥ 9.66 J/cm² rendered pork loin samples less red. All studies with pulsed light resulted in odor changes, except for the experiment on pork skin at 0.52 J/cm². Despite significant microbiological reduction on pork skin, further studies should be carried out to optimize this promising technology.

1. Introduction

Salmonella and pathogenic *Yersinia* ssp. are well-known causes of human food-borne illnesses. In 2016 they were the second and third most frequent causes of bacterial gastroenteritis in Germany and indeed throughout Europe. The Robert Koch Institute (RKI) reported 12.881 cases of salmonellosis and 2.759 cases of yersiniosis in Germany (RKI, 2017) while the European Food Safety Authority (EFSA) confirmed 94.625 cases of salmonellosis and 7.202 cases of yersiniosis in Europe in 2015 (EFSA, 2016). Both diseases can become life-threatening for YOPIs (young, old, pregnant, immunodeficient) and yersiniosis may evoke long-term repercussions, such as reactive arthritis or erythema nodosum. 38.6% of all salmonellosis cases and 21.4% of all *Salmonella*-caused outbreaks originate from *Salmonella* Typhimurium (Federal Institute for risk assessment (BfR), 2016). Yersiniosis is predominantly (81%) caused by *Yersinia enterocolitica* O:3 (BfR, 2016). Both microorganisms are closely associated to the consumption of raw pork meat and products

thereof (BfR, 2016; Boer and Nouws, 1991). Subclinically infected pigs are the main carriers of the bacteria (Bonardi et al., 2013; Fredriksson-Ahomaa, 2000; Nesbakken et al., 2006; Vanantwerpen et al., 2017). Premortal stress can lead to the translocation of microorganisms from contaminated regions (e.g. the intestines) into usually germ-free organs and muscles by a rising permeability of the intestinal barrier. Usually, serum bactericidal activity is supposed to limit enrichment of undesirable microorganisms. However, stress injures the serum bactericidal activity and promotes dissemination of germs after translocation (Fehlhaber et al., 1999) and can also be followed by increased excretion of *Salmonella* ssp. (Ferrer-Savall et al., 2016; Leyman et al., 2012; Seidler et al., 2001) and contamination of so far negative animals during transport or in the lairage (Berends et al., 1996; Ferrer-Savall et al., 2016). The prevalence of positive carcasses in the abattoir can fluctuate depending on the slaughterhouse, sampling day and pig herd. *Salmonella* and *Yersinia* ssp. were detected in up to 65.2% (Berends et al., 1997; Botteldoorn et al., 2003; Fehlhaber et al., 1996; Ludewig et al., 2001; Methner et al., 2011) and up to 55.3% (Bonardi et al., 2013; Fredriksson-Ahomaa et al., 2007; Vanantwerpen, 2014; van Damme et al., 2015) of all tested samples respectively and were mostly isolated from feces, lymph nodes, carcass surfaces and, concerning *Yersinia*, also from tonsils. It is not always observed that carcass contamination stems from the animal itself, since 30% of the positive results are attributable to cross-contamination (Borch et al., 1996; Laukkanen et al., 2009; Vanantwerpen et al., 2017) occurring during the slaughter process or following steps. The numbers mentioned above indicate that safety of products might not be ensured, despite high hygiene standards in European slaughterhouses, which is the reason for taking additional decontamination measures into account. Pulsed light (PL) has proven to be a promising method for reducing spoilage and pathogenic bacteria, fungi, protozoa and viruses on the surface of several food matrices (Aron-Maftei et al., 2013; Fernández et al., 2016; Ferrario et al., 2015; Gómez-López et al., 2007; Huffmann et al., 2000; Kramer et al., 2015). Microorganisms are killed by short pulses (μ s) of broad spectrum light produced by Xenon or Krypton flash lamps. The light consists of wavelengths from 200 to 1100 nm, particularly rich in UV-C (Gómez-López et al., 2007) and is considered to be an improvement to continuous mode treatments conducted in the past, due to the possibility of reducing processing time significantly (Gómez-López et al., 2012). The germicidal effect of PL is commonly explained by two coexisting mechanisms. Firstly, the so-called photochemical effect is due to the absorption of the UV-C part of the spectrum by the DNA and subsequent formation of pyrimidine dimers, primarily thymine dimers, inhibiting cell replication and, thus, leading to clonogenic death. The second mechanism is a photothermal effect, leading to damage of cell membrane, proteins and expansion of vacuoles (Elmnasser et al., 2007; Gómez-López et al., 2007). PL and its decontamination efficiency has been tested in a number of studies on different food matrices, such as fluids (Chaine et al., 2012; Krishnamurthy et al., 2007), fruits (Bialka and Demirci, 2007, 2008; Huang and Chen, 2014) and vegetables (Aguiló-Aguayo et al., 2013; Kramer et al., 2015). Bacterial reduction was also investigated on several meat products, for example, chicken breast and frankfurter sausages (Keklik et al., 2009, 2010), cooked ham and bologna sausage (Hierro et al., 2011), beef carpaccio (Hierro et al., 2012), and pork meat (Nicorescu et al., 2014) where reductions for *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens* and aerobic flora of between 1 and 3.4 log-units were achieved.

However, to our knowledge, there is no scientific data on the reduction kinetics of *Salmonella* Typhimurium and *Yersinia enterocolitica* on pork skin and loin in the literature so far. Hence, the objective of this study was to generate basic data on the bactericidal effect of PL on both microorganisms combined with an evaluation of product quality including color, odor and lipid peroxidation.

2. Materials and methods

2.1. Bacterial strains and preparation of inocula

Salmonella enterica ssp. *enterica* serovar Typhimurium and *Yersinia enterocolitica* (Biotype 4) were isolated from pork meat and stored in cryogenic tubes containing 2 mL of a hyper-tonic preservative solution (Cryobank TM-yellow, Mastgroup, Merseyside, UK) at $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$.

A pellet of both stock cultures was transferred into 5 mL of nutrient broth (NB I, TN1172, sifin diagnostics GmbH, Berlin, Germany) and incubated at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ (*Salmonella* Typhimurium) or $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ (*Yersinia enterocolitica*) for 24 h. A loop of *Salmonella* Typhimurium suspension was spread on brilliant green agar (BGA, TN1111, sifin diagnostics GmbH, Berlin, Germany) and incubated at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 24 h. The *Yersinia enterocolitica* suspension was streaked onto CIN agar (CM0653, supplement: SR 0109, Oxoid, Wesel, Germany) and incubated at $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 24 h.

For each trial, one colony of either *Salmonella* Typhimurium or *Yersinia enterocolitica* was transferred into 5 mL of NB I and grown for 16 h at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ (*Salmonella*) or for 18 h at $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ (*Yersinia*) to yield a concentration of 10^8 – 10^9 cfu/mL, which was determined by plate count.

2.2. Sample preparation and inoculation procedure

Pork skin and loin were obtained from a local retailer, sliced, vacuumed and frozen ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) in vacuum bags. Samples were sliced in a frozen state to guarantee homogeneous thickness and reproducibility. 24 h in advance, samples were placed in a refrigerator ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) to thaw overnight. Preliminary experiments with thawed and fresh samples resulted in no statistically significant differences in microbial reduction.

A sample size of 25 cm^2 was obtained by using a punch of 5.6 cm in diameter and put into sterile petri dishes. The inoculation was performed under a laminar flow hood (Heraeus, Germany). 100 μL of the initial inoculum were pipetted onto one side of the samples and spread homogeneously with a sterile Drigalsky spatula. This procedure led to a cell concentration of approximately 5×10^6 cfu/cm 2 . Inoculated samples were left to dry for 30 min under the laminar flow, allowing bacterial adaptation to the matrix. Two samples per vacuum bag were used as controls. One was inoculated, but not treated and the other one was analyzed with regard to the total aerobic plate count and naturally occurring *Salmonella* or *Yersinia*. They were determined by plating 1 mL of the undiluted suspension onto either three XLD (TN1196, sifin diagnostics GmbH, Berlin, Germany) or three CIN agar plates.

Non-inoculated samples were used for chemical and sensory analysis. For odor analysis fresh samples (skin and loin) were taken to exclude odor changes induced by freezing and thawing.

2.3. Pulsed light treatment

Light pulses were produced by a laboratory scale, benchtop sterilization system (SteriPulse-XL 3000, Model RS-3000C, Xenon Corporation, Wilmington, Massachusetts, USA). As reported by the manufacturer's specifications, the system generated 1.27 J/cm² per pulse at a distance of 1.93 cm from the quartz window. Fluences were calculated using the number of flashes, distance and illumination area (measured by means of solar paper). Pulse frequency was set to four pulses in the first second and three pulses in every additional second with a pulse length of 300 µs. The wavelengths emitted by the xenon flash lamp ranged from 200 to 1100 nm.

Pork skin and loin samples were treated in quadruplicate for microbiological analysis (n = 180) or in triplicate for color and temperature measurements (n = 108) at 8.3 cm, 10.8 cm and 13.4 cm for 1, 5, 10, 15, 20 and 30 s corresponding to fluences between 0.52 and 19.11 J/cm² (Table 1) for *Salmonella* and *Yersinia*, respectively. To determine lipid peroxidation, the following fluences were tested in quadruplicate: 0.52, 0.64, 0.84, 5.98, 7.36, 9.66, 11.83, 14.56 and 19.11 J/cm². The trials were carried out on the day of the PL treatment (day 0), day 5 and 10 of the pork skin and loin being stored in a refrigerator at 4 °C (n = 135). For sensory analysis, assays were chosen where microbial reductions of at least 2 log (99%) were obtained however no color differences ($\Delta E^*_{ab} < 3$) could be identified by potential consumers. In order to represent the impact of low, medium and high fluences on odor 0.52, 4.96 and 12.81 J/cm² were selected.

2.4. Microbiological analysis

PL treated samples and controls were instantaneously transferred into stomacher bags (Roth, Karlsruhe, Germany) containing 50 mL of peptone water (51094, bioMérieux, Nürtingen, Germany) and homogenized in a Stomacher®400 Circulator (Seward Limited, West Sussex, UK) for one minute at 260 rpm. Serial dilutions of the homogenates were prepared with sodium chloride peptone solution (Roth, Karlsruhe, Germany) and 100 µL of each dilution were plated in duplicate, either onto XLD or onto CIN agar. The XLD or CIN plates were incubated for 24 h at 37 °C or 28 °C and colonies were enumerated. The reduction factor was calculated by using the following equation:

$$\log (cfu_N/cfu_T)$$

where cfu_N indicates the number of bacteria found on the non-treated sample and cfu_T the number of bacteria found on the treated sample.

Trials resulting in a reduction of ≥2 log-units on pork skin and approximately 1.5 log on loin were chosen for enrichment trials, to verify whether a lower bacterial load could lead to higher reduction using a contamination dose of 1.6 × 10² cfu/cm² for *Salmonella* and 4.7 × 10² cfu/cm² for *Yersinia* (n = 5).

Skin samples were treated with 4.03, 7.93, 11.83 J/cm² for both pathogens, as those were assays where reductions of ≥ 2 log were achieved. In the loin meat trials, different fluences for each pathogen had to be selected, as only some specific fluences led to reduction of 1.5 log: 9.66, 12.81 and 14.56 J/cm² (*Salmonella*); 7.36, 9.76 and 14.56 J/cm² (*Yersinia*). Untreated, non-inoculated and untreated, inoculated samples were used as negative and positive controls.

Recovery for *Salmonella* was performed by adding 50 mL of peptone water to the samples and stomaching them for 60 s at 260 rpm. 1 mL of the homogenate was directly plated onto three XLD plates and incubated for 24 h at 37 °C. The enrichment procedure was conducted according to DIN EN ISO 6579-1:2014-08. Thus, the remaining homogenate was incubated for 24 h at 37 °C. Samples, where no presumptive colonies could be found in 1 mL, underwent further analysis. Hence, 100 μ L or 1 mL of the enriched peptone water was transferred into 9.9 mL of RVS (Rappaport-Vassiliadis-soja broth, Sifin) or into 9 mL of MKTT (Muller-Kauffmann-tetrathionate broth, Sifin) respectively. 200 μ L of iodine-potassium iodide solution (Merck, Darmstadt, Germany) was added to the MKTT before incubating the media for 24 h either at 42 °C (RVS) or at 37 °C (MKTT). Afterwards, three loops of RVS or MKTT were streaked onto a XLT4 (Xylose-Lysine-Tergitol4, Merck) and a BGA (from RVS) or BGA-N (brilliant-green-agar with novobiocin, Sifin and Sigma Aldrich, Steinheim, Germany) (from MKTT) plate and incubated once more for 24 h at 37 °C. Samples with presumptive colonies were considered as *Salmonella* positive.

Yersinia enrichment followed the instructions described in ISO/TC 34/SC 9 N with slight modifications, omitting enrichment with ITC (Irgasan, ticarcillin and potassium chlorate broth) and CEB (cold enrichment broth). 28 °C was chosen as incubation temperature for the CIN plates aiming at suppressing background flora. Additionally, PSB (peptone, sorbitol and bile salts) broth was vortexed in KOH solution (0.5 %, Merck and Roth) for 15 instead of 20 s, to ensure the recovery of *Yersinia*. Presumptive colonies were subcultured on CIN agar and afterwards transferred to urea (TN1143, sifin diagnostics GmbH, Berlin, Germany), (24 h, 30 °C) and CRMOX (congo red-magnesium oxalate, sifin and Merck), (24 h, 37 °C) agar. Positive reactions (urea: color change from orange to pink; CRMOX agar: small red colonies proving presence of virulence plasmid) confirmed the existence of pathogenic *Yersinia*. Once presumptive colonies of naturally occurring *Salmonella* or *Yersinia* on non-inoculated control samples (naturally contaminated samples) were found, trials were repeated with *Salmonella* or *Yersinia* free samples. *Salmonella* was found on 9.6% (up to 6×10^2 cfu/cm²) and *Yersinia* was detected on 1.8% of samples (up to 1.8×10^1 cfu/cm²).

VERÖFFENTLICHUNG

Table 1 Reduction of *S. Typhimurium* and *Y. enterocolitica* on pork skin and pork loin using pulsed light treatment.

treatment			pork skin		pork loin	
PL fluence (J/cm ²)	distance (cm)	time (s)	<i>Salmonella</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Yersinia</i>
0.52	13.4	1	1.84 ± 0.17 ^{ac}	1.97 ± 0.46 ^a	0.40 ± 0.13 ^a	0.37 ± 0.05 ^a
2.08		5	1.90 ± 0.30 ^{ac}	2.53 ± 0.61 ^{ac}	0.51 ± 0.13 ^a	0.58 ± 0.09 ^{ab}
4.03		10	2.09 ± 0.21 ^{ab}	2.43 ± 0.21 ^{ac}	0.64 ± 0.12 ^{abh}	0.86 ± 0.09 ^{bct}
5.98		15	2.73 ± 0.26 ^{ab}	3.12 ± 0.63 ^{abc}	1.03 ± 0.20 ^{ce}	0.86 ± 0.10 ^{bct}
7.93		20	2.90 ± 0.36 ^{ab}	2.30 ± 0.24 ^a	0.90 ± 0.06 ^{bct}	0.95 ± 0.10 ^{bct}
11.83		30	2.29 ± 0.48 ^{ab}	2.37 ± 0.50 ^a	0.94 ± 0.13 ^{ch}	0.99 ± 0.17 ^{ctg}
0.64	10.8	1	1.73 ± 0.35 ^a	1.48 ± 0.41 ^a	0.54 ± 0.23 ^{af}	0.84 ± 0.13 ^{bct}
2.56		5	2.38 ± 0.43 ^{ab}	2.00 ± 0.36 ^a	0.78 ± 0.08 ^{ac}	1.06 ± 0.27 ^{cd}
4.96		10	2.50 ± 0.52 ^{ab}	2.07 ± 0.27 ^a	1.03 ± 0.12 ^{ce}	1.16 ± 0.11 ^{cd}
7.36		15	2.35 ± 0.52 ^{ab}	2.36 ± 0.33 ^a	1.35 ± 0.21 ^{de}	1.42 ± 0.24 ^{de}
9.76		20	3.16 ± 0.57 ^b	3.42 ± 1.49 ^{ab}	1.26 ± 0.18 ^{egh}	1.69 ± 0.26 ^e
14.56		30	2.59 ± 1.13 ^{ab}	2.07 ± 0.32 ^a	1.59 ± 0.18 ^{dg}	1.37 ± 0.18 ^{dge}
0.84	8.3	1	1.81 ± 0.24 ^{ac}	1.99 ± 0.18 ^a	1.00 ± 0.12 ^{bce}	0.78 ± 0.08 ^{bc}
3.36		5	2.19 ± 0.61 ^{ab}	2.54 ± 0.71 ^{ac}	1.08 ± 0.06 ^{ce}	1.02 ± 0.10 ^{ctg}
6.51		10	2.62 ± 0.40 ^{ab}	1.94 ± 0.50 ^a	1.49 ± 0.10 ^{dg}	0.84 ± 0.17 ^{bct}
9.66		15	2.34 ± 0.50 ^{ab}	4.37 ± 1.39 ^b	1.67 ± 0.25 ^d	1.14 ± 0.20 ^{cd}
12.81		20	2.12 ± 0.60 ^{ab}	4.20 ± 1.32 ^{bc}	1.71 ± 0.25 ^d	1.18 ± 0.09 ^{df}
19.11		30	2.97 ± 0.64 ^{bc}	4.19 ± 1.35 ^{bc}	0.76 ± 0.10 ^{ac}	1.33 ± 0.25 ^{dghe}

Data represent mean log reductions (log CFU/cm²) of five replicates ± standard deviations.

The mean initial populations of *S. Typhimurium* and *Y. enterocolitica* were 4.72×10^6 cfu/cm² and 5.34×10^6 cfu/cm² respectively.

Data in the same column followed by the same lowercase superscript are not significantly different ($p > 0.05$).

2.5. Color measurements

Before and immediately after treatment, the color of each sample was measured by using the spectrophotometer CM 600 d (Konica Minolta, Germany). Measurements were performed in three random locations on each sample. The color was described by three parameters of the CIELAB system: L (lightness), a (redness) and b (yellowness).

2.6. Temperature measurements

The temperature of samples was monitored using an infrared thermometer (104-IR, Testo, Germany). Differences in surface temperature (ΔT) were calculated and temperature profiles were generated by depicting the mean value \pm standard deviation.

2.7. Lipid peroxidation

The thiobarbituric-acid reactive substances (TBARS) method was applied for evaluating lipid peroxidation. The analysis was performed according to Botsoglou et al. (1994) with some modifications. 5 g samples were acidified with 10 mL of 5% aqueous trichloroacetic acid (TCA; Roth). The hexane – containing homogenate was centrifuged for 5 min at 3000 g (Centrifuge 5804 R, Eppendorf, Germany). The aqueous phase (2 mL) was filtered by using a syringe filter (0.45 μ m for pork skin; 0.2 μ m for pork loin, Sartorius, Germany). Subsequently, 1 mL of the filtrate and 0.6 mL 0.8% TBA (AppliChem, Darmstadt, Germany) were filled into a tube for the following heating process. Absorbancies were recorded against a blank reaction mixture at 532 nm by means of a spectrophotometer (Novaspec II, GE Healthcare Life Sciences, Freiburg, Germany). The malondialdehyde (MDA) content was determined by using a standard curve established by serially diluting 1, 1, 3, 3-tetraethoxypropane (TEP, Sigma Aldrich, Steinheim, Germany) according to Rosenbauer (2002).

2.8. Sensory analysis

Sensory analysis comprised evaluation for a rancid odor induced by PL treatments and was conducted by ten experienced food appraising panelists, certified by DLG (German Agricultural Society). The following assays were chosen based on high microbial reductions, minimal color differences ($\Delta E^*_{ab} < 3$) and in order to represent the impact of low, moderate and high fluences on product quality: 0.52, 4.96 and 12.81 J/cm². Ten samples per assay (treated and untreated) and matrix (pork skin and pork loin) were analyzed and equally distributed over three independent sessions (n = 80). After treatment, all samples were transferred into screw-capped glass bottles, blinded by a three-digit numerical code and offered to the panelists in random order. At the beginning of each session all ten panelists were asked to evaluate the odor of four reference samples per matrix (one untreated and one per assay) together. They were required to form a consensus on the magnitude of odor

deviation on a scale from 0 to 5, 0 meaning no sensory deviation and 5 meaning a strong off-odor. Those reference samples should serve as orientation for the following sensory analysis. Afterwards, panelists formed three groups of two or three members and evaluated blinded samples by means of consensus profiling using the above-mentioned scores (0-5) which led to three different scores per sample (since there were three groups). Those three scores were averaged and their mean values were used for statistical analysis (ANOVA).

2.9. Statistical analysis

GraphPad software version 4.00 for Windows (GraphPad Software, San Diego, USA) was used for statistical analysis. The Kolmogorov-Smirnov-test was performed to ensure the normal distribution of samples. One-way analysis of variance (ANOVA) was carried out to determine the impact of energy input (fluence) on bacterial reduction, lipid peroxidation as well as color and odor change. Where significant differences ($p < 0.05$) between assays were found, a Bonferroni post-hoc test was added to determine which parameter combinations exactly differed significantly from each other. For evaluation of the effect of bacterial species and matrix on decontamination success a t-test was conducted. Results are averages of five (microbiological and lipid peroxidation trials), three (temperature and color measurements) or ten (sensory analysis) independent samples and reported as a mean \pm standard deviations.

3. Results and discussion

3.1. Microbiological analysis

3.1.1. Effect of PL treatment on the reduction of *Salmonella* Typhimurium and *Yersinia enterocolitica* on pork skin

A reduction of 1.73 to 3.16 log and 1.48 to 4.37 log was obtained for *Salmonella* and *Yersinia* on pork skin, respectively. 90-99 % of the bacteria were already inactivated within the first second of PL treatment (Table 1). Minimally higher reductions could be achieved by increasing the fluence. Statistically significant differences in reduction rates between fluences could be determined only occasionally due to fluctuation and high standard deviations. Similar treatments were only carried out with lower energy, other matrix (Haughton et al., 2011) or different light sources (Wong et al., 1998) impeding direct comparison with known literature values.

Analogically to *Salmonella*, only in some cases there were significant differences between assays in trials with *Yersinia* on pork skin. *Yersinia* was better reduced than *Salmonella* on pork skin, but statistical significance could only be detected in two cases (9.66, 12.81 J/cm²). This might be due to higher susceptibility of *Yersinia* to UV light or ozone. Standard

deviations are remarkably high (up to 1.39) and were not reported before in scientific literature, leading to the assumption that it is related to the matrix. Samples had different numbers of pores and crevices as well as traces of bristles, which might have resulted in different shading effects.

At a contamination dose of 10^2 cfu/cm² no *Salmonella* could be recovered from pork skin. Those samples were enriched and then proved to be *Salmonella*-positive. *Yersinia* could solely be recovered from three pork skin samples treated with 19.11 J/cm² which could be due to photoreactivation occurring during storage meaning the recovery of culturability by a photolyase-dependent DNA repair mechanism triggered by visible light. This phenomenon leads to the assumption that PL may cause sublethal damage to bacterial cells inducing a viable but non culturable (VBNC) state (Kramer et al., 2017). VBNC cells are characterized by their incapability to reproduce but they are still able to maintain a membrane potential, metabolic activity, esterase activity, ATP maintenance, glucose uptake activity or pump activity (Kramer and Muranyi, 2014) and might limit the application of PL since there is no data showing if those survivors still pose a risk to human health. Further studies in other food commodities are needed in order to identify new methods of enumeration and identification of VBNC cells other than conventional growth dependent techniques on agar plates which might bring about radical reappraisal of processing parameters and detection limits (Rowan et al., 2015).

Yersinia-negative pork skin samples were enriched and the following amount of samples contained presumptive pathogenic *Yersinia enterocolitica*. This could be confirmed by positive reactions on urea and CRMOX agar: 3/5 at 9.66 J/cm², 1/5 at 12.81 J/cm² and 4/5 at 19.11 J/cm². Survival of pathogenic *Salmonella* and *Yersinia* in real food systems is probable if they are sheltered or protected in crevices.

3.1.2. Effect of PL treatment on the reduction of *Salmonella* Typhimurium and *Yersinia enterocolitica* on pork loin

Reduction on pork loin ranged from 0.40 to 1.71 log-units for *Salmonella* and from 0.37 to 1.69 log for *Yersinia* (Table 1). Comparable to pork skin, reduction barely increased with fluence leading to a tail shaped curve. Fluctuation, as well as standard deviations, led to only rarely occurring significant differences in reduction rates between various energy inputs. In contrast to pork skin, standard deviations were much smaller (0.05-0.25) and comparable to those obtained by Nicorescu et al. (2013) when inactivating aerobic flora and *Pseudomonas fluorescens* on raw pork roast (0.1-0.24) confirming the assumption that standard deviations are matrix-dependent, as mentioned above. Our decontamination results for *Salmonella* on loin are consistent with results by Rajkovic et al. (2017), who reduced *Salmonella* Typhimurium on sliced fermented salami by 2.3 log (pork). Other authors who treated different meat products and raw meat with PL obtained comparable reduction rates. Keklik et al. (2010), Gudelis & Luksiene (2010) and Pasceviciute et al. (2011) reduced *Salmonella* Typhimurium by 2 log on raw chicken, Hierro et al. (2011) by 1 log on beef carpaccio and Ganan et al. (2013) by 1.5 and 1.7 log on salchichón and dry - cured loin.

Reduction efficacy on pork loin was significantly lower for almost every distance/time combination compared to that on skin. Possible reasons for this observation may be differences in contour, porosity and surface roughness between the skin and muscle which, allows PL to interact differently with the microorganisms present on each surface (Wong et al., 1998; Yaun et al., 2004). The smoother the surface, the greater the decontamination efficiency (Yaun et al., 2004) which was proven by comparing reduction rates and roughness of different fruits (Syamaladevi et al., 2015). It has also been shown that surface hydrophobicity has an influence on decontamination efficiency, which was investigated more profoundly by Syamaladevi et al. (2013). Less hydrophobic surfaces showed better reductions, most likely because of the broader spatial distribution of bacterial cells, which resulted in a higher exposure to PL. These findings are contradictory to our results, since pork skin, mainly consisting of fat, is obviously more hydrophobic than loin. When inoculating our samples, we were able to observe how the inoculum on pork skin formed small beads on the surface while on loin it was almost immediately absorbed. This shows that bacteria on loin are transported into deeper layers by diffusion, where they might be sheltered from the PL whereas remaining microorganisms on skin surface can be reached more easily (Nicorescu et al. 2014). Few samples were *Salmonella*-negative when using an inoculation level of 2 log (9.76, 14.56 J/cm²). Lower inoculation levels should avoid formation of multi-layers and prevent shadowing, leading to the expectation that almost all microorganisms should be destroyed by PL (Gómez-López et al., 2005). However, where no *Salmonella* could be recovered, an enrichment was performed which turned out positive in both cases. *Yersinia* could be recovered after all three tested assays, which rendered an enrichment unnecessary. Hence, no complete elimination could be obtained. According to Uesugi et al. (2007) there is a certain number of crevices on a surface where microorganisms are able to hide. The remaining upper layers of bacteria are exposed to PL. Thus, no matter how high the initial inoculum was, the amount of survivors remains constant which is why enrichment procedures were always positive.

Table 2 Fluence and temperature change corresponding to parameter-combinations.

Distance (cm)	Time (s)	Fluence (J/cm ²)	Temperature Change (ΔT)	
			pork skin	pork loin
8.3	1	0.84	1.4 \pm 0.7	1.5 \pm 0.2
	5	3.36	5.7 \pm 0.3	4.5 \pm 0.9
	10	6.51	10.2 \pm 0.1	8.1 \pm 1.9
	15	9.66	12.9 \pm 0.5	10.8 \pm 1.9
	20	12.81	15.6 \pm 3.6	13.7 \pm 2.7
	30	19.11	24.1 \pm 1.6	17.2 \pm 3.1
10.8	1	0.64	1.0 \pm 0.6	0.9 \pm 0.5
	5	2.56	4.3 \pm 1.2	2.8 \pm 0.4
	10	4.96	8.5 \pm 0.8	5.4 \pm 0.8
	15	7.36	12.5 \pm 1.7	7.4 \pm 0.5
	20	9.76	15.3 \pm 1.8	9.2 \pm 0.4
	30	14.56	20.3 \pm 2.8	13.9 \pm 0.8
13.4	1	0.52	0.4 \pm 0.4	0.6 \pm 0.2
	5	2.08	3.0 \pm 0.9	2.6 \pm 0.3
	10	4.03	5.2 \pm 0.8	4.5 \pm 0.7
	15	5.98	7.4 \pm 1.6	6.0 \pm 0.2
	20	7.93	10.0 \pm 2.2	7.2 \pm 0.9
	30	11.83	13.2 \pm 2.8	10.2 \pm 1.7

Initial temperature of samples was 23 °C.

3.2. Temperature measurements

Table 2 presents the temperature rise on pork skin and loin resulting from PL. The initial temperature was 23 °C and increased with longer treatment time and smaller distance to the PL source. Skin heated up faster than loin under same treatment conditions. This phenomenon is reported in the literature as being attributed to the higher amount of water in pork meat (75%) (Kim et al., 2008) than pork skin (65%) (Schnaeckel et al., 2014). Thus, much of the energy input is used for water vaporization resulting in lower product heating. The highest temperatures were registered after 30 s at a distance of 8.3 cm from the light source with a ΔT of 24.1 °C on skin and 17.2 °C on loin resulting in product temperatures of 47.1 °C and 40.2 °C, respectively. It is generally known that *Salmonella* and *Yersinia* ssp. start dying at temperatures >45 °C (Doherty et al. 1998, Doyle et al. 2000, Gurman et al. 2016). As only one assay (pork skin: 8.3 cm, 30 s) reached this threshold and this did not lead to significantly higher reduction, microbial reduction was not attributable to heating. Our findings in temperature rise are comparable with those reported by Keklik et al. (2009, 2010).

3.3. Color measurements

Table 3 illustrates the effect of PL on the color of pork skin and loin. Positive values for ΔL , Δa and Δb imply that pork skin and loin turned lighter, redder or yellower, respectively; negative values signify that samples became darker, greener or bluer, respectively. Cserhalmi et al. (2006) investigated whether a color difference is visually perceivable and divided the values for ΔE^*ab (total color difference) into the following categories: not noticeable (0-0.5), slightly noticeable (0.5-1.5), noticeable (1.5-3.0), well visible (3.0-6.0) and highly visible (6.0-12.0).

The L^* value of pork skin only changed minimally during assays. A significant difference ($p < 0.05$) could only be observed in two cases (0.64/7.36 vs. 14.56 J/cm²). Furthermore, skin samples turned significantly less red after being treated at 7.36, 9.76, 12.81 and 19.11 J/cm². Fluences ≥ 7.36 J/cm² (except for 9.66 J/cm²) led to well visible color changes ($\Delta E^*ab \geq 3$). The b^* value was not significantly different between treatments for either of the investigated matrices.

The L^* value of the PL treated loin was not affected by any of the selected parameter combinations.

Loin samples became significantly less red when treated at 9.66, 12.81 and 19.11 J/cm². ΔE^*ab did not exceed the value of 3 on either of the tested fluences. Loss of redness of treated samples could be explained by destruction of several chromophores, such as hemoglobin (pork skin) and myoglobin (pork loin) (Lim et al., 2014; Nicorescu et al., 2014) and seemed to be dependent on red color distribution before the PL treatment. Skin samples were quite heterogeneous with respect to color. Poor exsanguination or ranking fights amongst fattening pigs might have resulted in petechiae or maculae. Other samples were beige with no traces of red and did not change their color visibly whereas red samples turned noticeably paler. Loin, on the other hand, was homogeneous in all samples tested.

Our findings, namely a decrease in L^* and a^* values, are in line with the results of Keklik et al. (2009) who also obtained decreasing L^* and a^* values in chicken frankfurters.

A number of other research groups have made the same observations regarding redness. Almost all tested meat types showed a decrease in a^* values except for chicken and fish (Hierro et al., 2011; Nicorescu et al., 2014; Tomasevic et al., 2015a,b; Wambura et al., 2011) which might be attributable to only small amounts of chromophores in chicken and fish.

Table 3 Effect of PL on the color of pork skin and pork loin.

Treatment			Color Change							
			Pork Skin				Pork Loin			
Distance (cm)	Time (s)	Fluence (J/cm ²)	ΔL	Δa	Δb	ΔE*ab	ΔL	Δa	Δb	ΔE*ab
13.4	1	0.52	0.5 ± 0.8 ^a	−0.2 ± 0.2 ^a	−0.4 ± 0.7 ^a	1.0 ± 0.3 ^{ae}	0.7 ± 3.3 ^a	0.8 ± 0.7 ^a	1.0 ± 0.9 ^a	2.9 ± 1.5 ^a
	5	2.08	0.2 ± 0.5 ^{ab}	−0.2 ± 0.5 ^{ac}	−0.0 ± 1.3 ^a	1.2 ± 0.3 ^{ae}	0.7 ± 0.7 ^a	0.2 ± 0.1 ^{ab}	−0.1 ± 0.4 ^a	1.0 ± 0.3 ^a
	10	4.03	−0.2 ± 0.3 ^{ab}	−0.5 ± 0.4 ^{ac}	0.1 ± 0.7 ^a	0.9 ± 0.1 ^{ae}	0.0 ± 1.5 ^a	0.4 ± 0.7 ^a	0.3 ± 0.8 ^a	1.5 ± 0.4 ^a
	15	5.98	0.6 ± 0.6 ^a	−0.9 ± 0.6 ^{acd}	0.6 ± 2.7 ^a	2.4 ± 1.2 ^{acde}	−0.9 ± 0.8 ^a	0.2 ± 0.6 ^{ab}	0.9 ± 1.1 ^a	1.6 ± 1.1 ^a
	20	7.93	0.0 ± 0.4 ^{ab}	−0.6 ± 0.3 ^{ac}	0.3 ± 1.4 ^a	1.4 ± 0.4 ^{ade}	−0.0 ± 0.6 ^a	−0.2 ± 0.3 ^{abc}	0.8 ± 0.1 ^a	1.0 ± 0.1 ^a
	30	11.83	−0.9 ± 0.9 ^{ab}	−0.6 ± 0.5 ^{ac}	−0.2 ± 1.9 ^a	2.1 ± 0.7 ^{acde}	0.4 ± 0.7 ^a	−0.1 ± 0.5 ^{abc}	0.3 ± 0.3 ^a	0.8 ± 0.5 ^a
10.8	1	0.64	0.4 ± 0.3 ^a	−0.4 ± 0.5 ^{ac}	0.2 ± 0.4 ^a	0.8 ± 0.2 ^e	0.5 ± 0.9 ^a	0.4 ± 0.2 ^a	0.6 ± 0.1 ^a	1.1 ± 0.3 ^a
	5	2.56	−0.6 ± 0.4 ^{ab}	−0.4 ± 0.1 ^{ac}	0.7 ± 0.3 ^a	0.9 ± 0.5 ^{ae}	0.1 ± 0.8 ^a	0.4 ± 0.3 ^a	0.6 ± 0.3 ^a	0.9 ± 0.5 ^a
	10	4.96	−1.3 ± 1.1 ^{ab}	−0.1 ± 0.5 ^a	0.9 ± 1.2 ^a	2.1 ± 0.4 ^{aecd}	1.1 ± 0.2 ^a	−0.3 ± 0.3 ^{abc}	−0.3 ± 0.4 ^a	1.2 ± 0.2 ^a
	15	7.36	1.1 ± 1.5 ^a	−4.8 ± 0.9 ^{bcdde}	−0.5 ± 0.2 ^a	5.1 ± 1.2 ^b	0.4 ± 1.1 ^a	−0.4 ± 0.1 ^{abc}	−0.2 ± 0.1 ^a	0.9 ± 0.6 ^a
	20	9.76	−0.7 ± 1.1 ^{ab}	−2.6 ± 1.2 ^{ce}	−1.1 ± 0.5 ^a	3.1 ± 1.3 ^{ab}	0.3 ± 0.5 ^a	−0.1 ± 0.5 ^{abc}	0.3 ± 0.4 ^a	0.8 ± 0.4 ^a
	30	14.56	−2.6 ± 1.8 ^b	−0.9 ± 2.1 ^{acd}	−0.8 ± 0.7 ^a	3.7 ± 0.6 ^{cb}	0.9 ± 0.5 ^a	−0.7 ± 0.2 ^{abcd}	0.1 ± 0.2 ^a	1.2 ± 0.5 ^a
8.3	1	0.84	−0.6 ± 0.5 ^{ab}	0.2 ± 0.6 ^a	0.2 ± 0.9 ^a	1.1 ± 0.6 ^{ae}	0.1 ± 0.3 ^a	0.4 ± 0.5 ^a	0.4 ± 1.1 ^a	1.0 ± 0.7 ^a
	5	3.36	−0.9 ± 0.6 ^{ab}	−1.2 ± 0.5 ^{acde}	−0.5 ± 0.3 ^a	1.7 ± 0.3 ^{aecd}	−1.1 ± 0.6 ^a	0.1 ± 0.2 ^{ab}	0.6 ± 0.2 ^a	1.3 ± 0.6 ^a
	10	6.51	−0.4 ± 1.2 ^{ab}	−1.2 ± 0.4 ^{acde}	−0.1 ± 0.6 ^a	2.4 ± 0.1 ^{aecd}	−1.9 ± 1.4 ^a	0.2 ± 0.5 ^{ab}	0.7 ± 0.7 ^a	2.1 ± 1.5 ^a
	15	9.66	−1.7 ± 0.9 ^{ab}	−1.0 ± 0.8 ^{adc}	0.3 ± 0.4 ^a	2.2 ± 0.4 ^{aecd}	−0.7 ± 1.3 ^a	−1.2 ± 0.3 ^{bcd}	0.1 ± 0.3 ^a	1.7 ± 0.7 ^a
	20	12.81	−0.5 ± 0.9 ^{ab}	−3.3 ± 0.7 ^{dce}	−0.5 ± 0.4 ^a	3.5 ± 0.7 ^{dbc}	0.2 ± 0.3 ^a	−1.6 ± 0.4 ^{bcd}	−0.4 ± 0.2 ^a	1.7 ± 0.4 ^a
	30	19.11	−1.2 ± 0.5 ^{ab}	−3.5 ± 0.3 ^{ec}	−0.4 ± 0.4 ^a	3.8 ± 0.2 ^{cbd}	0.4 ± 0.4 ^a	−1.9 ± 0.9 ^{bcd}	−0.8 ± 1.3 ^a	2.4 ± 1.1 ^a

ΔL (lightness), Δa (redness), Δb (yellowness) and ΔE*ab were obtained by subtracting the mean value of three color measurements after PL treatment from the mean value of three color measurements before PL treatment.

Data in the same column followed by the same lowercase superscript are not significantly different ($p > 0.05$).

3.4. Lipid peroxidation

Tarlagdis et al. (1960) reported a threshold range of 0.5-1.0 µg MDA/g pork for sensory detection of rancidity as determined by trained panelists. The MDA levels of all samples tested in our study were below that threshold (even after a storage at 4 °C for 10 days, data not shown) as shown in Table 4. Generally, susceptibility of food matrices to lipid peroxidation depends on fat content and amount of (poly)-unsaturated fatty acids as well as the antioxidative potential of the matrix. Pork loin possesses relatively low proportions (10%) of polyunsaturated fatty acids (Castaneda Rocha de Kopp, 2013; Nicorescu et al., 2014), which might be the reason why, even at high fluences, the above-mentioned threshold for MDA was not exceeded.

In pork skin, the MDA concentration was significantly higher ($p < 0.05$) at fluences of 0.84, 9.66 and 14.56 J/cm² in comparison to the control and the other fluences applied, but clearly remained beneath the threshold concentration of 0.5 µg/g. In loin, there is no statistically significant difference between the control and treated samples. Consequently, PL treatment did not induce accelerated lipid peroxidation in loin. These results are in agreement with the work of Rajkovic et al. (2017) who did not find any significant differences in the concentration of MDA between the control (0.33 mg MDA/kg), 3 J/cm² (0.31 mg MDA/kg) and 15 J/cm² treated salami samples (0.49 mg MDA/kg). Nicorescu et al. (2014) conducted TBARS trials concerning raw pork roast and found MDA concentrations between 30 and 125 times lower than ours. This considerable disparity may be caused by different fat content and fatty acid patterns in pork meat used in the different studies.

Table 4 Effect of PL treatment on lipid peroxidation in pork skin and pork loin.

Treatment			Lipid Peroxidation	
Distance (cm)	Time (s)	Fluence (J/cm ²)	Pork Skin Day 0	Pork Loin Day 0
Control			0.044 ± 0.01 ^{ab}	0.014 ± 0.001 ^{ab}
13.4	1	0.52	0.062 ± 0.01 ^{ad}	0.020 ± 0.01 ^a
	15	5.98	0.042 ± 0.01 ^{ab}	0.017 ± 0.003 ^{ab}
	30	11.83	0.065 ± 0.01 ^{ad}	0.016 ± 0.003 ^{ab}
10.8	1	0.64	0.034 ± 0.01 ^b	0.012 ± 0.002 ^{ab}
	15	7.36	0.064 ± 0.01 ^{ad}	0.016 ± 0.001 ^{ab}
	30	14.56	0.110 ± 0.02 ^c	0.017 ± 0.001 ^{ab}
8.3	1	0.84	0.077 ± 0.01 ^d	0.015 ± 0.01 ^{ab}
	15	9.66	0.073 ± 0.01 ^d	0.013 ± 0.002 ^{ab}
	30	19.11	0.044 ± 0.01 ^a	0.011 ± 0.001 ^b

Data represent mean MDA concentrations (µg/g) of five replicates ± standard deviations.

Data in the same column followed by the same lowercase superscript are not significantly different (p > 0.05).

3.5. Sensory analysis

The results of the sensory analysis for pork skin are presented in Fig. 1 and Table 5. Panelists assessed even untreated samples as deviant (a score of 0.75) and described them as slightly chlorine-like (pork skin). Treated samples, however, were always distinctly recognized, regardless of the treatment intensity, because the odor quality changed to chemical (ozone-like), pungent and unpleasant. However, treatment at 0.52 J/cm² rendered samples less fatty or less porky. As these values only indicate a slight odor change and score (1.4) and were minimally higher than that of untreated controls this could not be confirmed by statistical analysis where scores were compared using ANOVA. A statistically significant difference could only be found between controls and samples treated at 4.96, 12.91 J/cm² but not between the controls and 0.52 J/cm². When comparing samples treated at 4.96 and 12.81 J/cm², off-odor was more unpleasant at 4.96 J/cm², but at 12.81 J/cm² panelists regarded the off-odor as more complex and somewhat sweet.

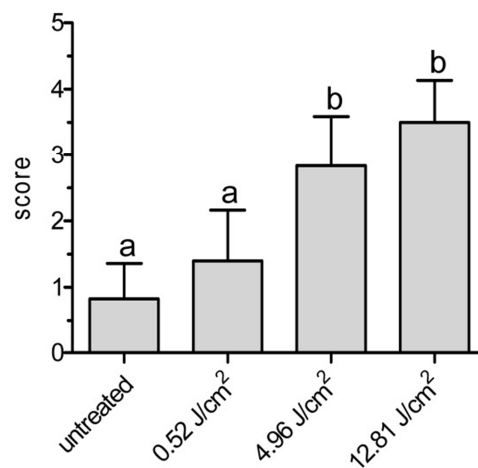


Fig. 1 Sensory analysis for pork skin.

Our results for loin (Fig. 2 and Table 5) are mostly comparable to those for skin except for untreated samples, which were described as slightly acidic. Odor at 0.52 J/cm² was already unpleasant and chemical. Again no statistical difference could be found between controls (score: 1.4) and samples treated at 0.52 J/cm² (score: 1.8): as scores were too similar.

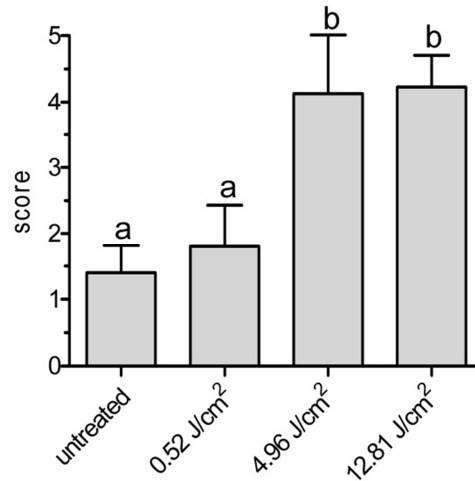


Fig. 2 Sensory analysis for pork loin.

Other authors having treated meat matrices with PL made diverse observations concerning odor. Hierro et al. (2011) and Ganan et al. (2013) who treated ready-to-eat cooked and cured meat either did not find any significant differences or only above fluences of 4.2 and 11.9 J/cm², respectively. Thus, much higher fluences were required to induce off-odor than in our study. Ganan et al. (2013) postulate a reason for this observation could be that processed meat products are less susceptible to PL, due to the stronger flavor induced by the addition of fat, salt, nitrite/nitrate and spices.

Panelists evaluating PL treated raw meat described samples as having a loss of freshness, but still acceptable (Hierro et al., 2012) or by a strong cooked smell (Nicorescu et al., 2014), but this also required higher fluences than in our trials (8.4 J/cm²; 30 J/cm²). Paskeviciute et al. (2011) noticed moderate odor changes in raw chicken meat. An extensive study concerning odor change in raw meat by PL was conducted by Tomasevic et al. (2015a) resulting in decreased odor scores for beef, chicken, turkey, deer and rabbit after one pulse. Pork and kangaroo were less sensitive to PL. This is in contrast to our study where pork loin smelled unpleasant even at a low fluence.

Possibly, these disparate findings are caused by the usage of different PL systems and, thus, different lamp systems and ozone formation. Since odor changes were highly undesirable, measures should be taken to avoid their occurrence. Several ways are conceivable to achieve this goal; one way of preventing ozone formation is the use of PL systems with a minimum wave-length of 200 nm, as only very short wave-lengths (<200 nm) possess enough energy to turn oxygen molecules into ozone.

Table 5 Effect of PL treatment on odor of pork skin and pork loin.

Odor	Fluence (J/cm ²)			
	Untreated	0.52	4.96	12.81
Pork Skin	characteristically porky, greasy, fatty, slightly like chlorine	less porky, less fatty	unpleasant, chemical, pungent, sharp, ozoneous	less unpleasant but more complex than after 4.96 J/cm ² , sweet, strongly chemical, strongly ozoneous
Pork Loin	characteristically like pork meat, slightly acidic	less porky, slightly chemical	chemical, pungent, musty, ammoniacal	strong off-odor, strongly chemical, slightly roasted or burnt, sweet, faecal, pungent

4. Conclusions

The impact of PL technology on the reduction of *Salmonella* Typhimurium and *Yersinia enterocolitica* on pork skin and loin, as well as on chemical and sensorial properties was investigated. Treatments did not cause temperatures higher than 45 °C (except for 8.3 cm, 30 s on pork skin), so that microbial reductions can solely be associated with photochemical effects. The tested parameter combinations resulted in pathogen reductions on loin of approximately 1 log, but this did not prove to be significant, probably due to its surface topography. In contrast, significant reductions (~2-4.37 log) were achieved on pork skin, however, the high standard deviations may lead to the assumption that PL could only be used to reduce microbial load but not to guarantee full product safety as reductions cannot be reliably predicted. The applied fluences were not satisfying from a sensorial point of view and could therefore not be applied on a real industrial scale at this point. Only a fluence of 0.52 J/cm² led to a less fatty and less porky smell in pork skin, which was perceived as pleasant. However, since there are very high standard deviations concerning microbial reductions this might still not be the optimal setting. Fluences ≥ 7.36 J/cm² resulted in visible change in color parameters in pork skin and energies ≥ 9.66 J/cm² provoked a decrease of red color in pork loin samples. A significant rise in lipid peroxidation could not be observed.

According to the data PL is not a suitable treatment for pork loin, but could be an option for pork skin decontamination. As contact- and residue free, fast and water-saving technology it might be an interesting alternative to the decontamination methods currently approved in the EU (water and lactic acid) as its reduction results are comparable. Low fluences (0.52 J/cm²) should be used for an appropriate product quality. At the moment the high investment costs and shadow effects on opaque nature foods as well as undesirable odor deviations are major downsides of the PL treatment. Further studies need to be performed in order to investigate optimal parameter combinations, nutritional and toxicological aspects as well as the risk of VBNC cells for human health.

Acknowledgements

This work was funded by the Research Association of the German Food Industry (FEI e.V., Bonn, Germany, project number AiF 17877 BG). The authors would like to thank the German Institute of Food Technologies (DIL e.V. Quakenbrück, Germany) for providing the PL system, S. Berft for her excellent help in the laboratory as well as Dr. M. Koethe for his assistance in the statistical analysis.

Conflict of interest

None.

References

- Aguiló-Aguayo, I., Charles, F., Renard, Catherine M.G.C., Page, D., Carlin, F., 2013. Pulsed light effects on surface decontamination, physical qualities and nutritional composition of tomato fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 86, 29–36.
- Aron-Maftei, N., Ramos-Villarroel, A.Y., Nicolau, A.I., Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., 2013. Pulsed light inactivation of naturally occurring moulds on wheat grain. *J. Sci. Food Agric.* 94, 721-726
- Berends, B.R., Urlings, H.A.P., Snijders, J.M.A., van Knapen, F., 1996. Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. in pigs. *Int. J. Food Microbiol.* 30, 37–53.
- Berends, B.R., van Knapen, F., Snijders, J.M.A., Mossel, D.A.A., 1997. Identification and quantification of risk factors regarding *Salmonella* spp. on pork carcasses. *Int. J. Food Microbiol.* 36, 199–206.
- Bialka, K.L., Demirci, A., 2007. Decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on blueberries using ozone and pulsed UV-light. *J. Food Sci.* 72, M391-M396.
- Bialka, K.L., Demirci, A., 2008. Efficacy of pulsed UV-light for the decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. on raspberries and strawberries. *J. Food Sci.* 73, 201–207.
- Bonardi, S., Bassi, L., Brindani, F., D'Incau, M. 2013. Prevalence, characterization and antimicrobial susceptibility of *Salmonella enterica* and *Yersinia enterocolitica* in pigs at slaughter in Italy. *Int. J. Food Microbiol.* 163, 248–257.
- Borch, E., Nesbakken, T., Christensen, H., 1996. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 30, 9–25.
- Botsoglou, N.A., Fletouris, D.J., Papageorgiou, G.E., Vassilopoulos, V.N., Mantis, A.J., Trakatellis, A.G., 1994. Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *J. Agr. Food Chem.* 42, 1931–1937.
- Botteldoorn, N., Heyndricks, M., Rijpens N., Grijspeerdt, K., Herman, L., 2003. *Salmonella* on pig carcasses: positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse. *J. Appl. Microbiol.* 95, 891–903.
- Bundesinstitut für Risikobewertung, 2016. Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2014. BfR-Wissenschaft 06.
- Castaneda Rocha de Kopp, F.C., 2013. Fettoxidation in Modellbrühwürsten mit Rapsöl als Alternative zu Schweinespeck. Master's thesis. University of Wien.
- Chaine, A., Levy, C., Lacour, B., Riedel, C., Carlin, F., 2012. Decontamination of sugar syrup by pulsed Light. *J. Food Prot.* 75, 913–917.

- Cserhalmi, Zs., Sass-Kiss, Á., Tóth-Markus, M., Lechner, N., 2006. Study of pulsed electric field treated citrus juices. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 7, 49–54.
- Doherty, A.M., McMahon, M.M., Sheridan, J.J., 1998. Thermal resistance of *Yersinia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes* in meat and potato substrates. *J. Food Saf.* 18, 69-83.
- Doyle, M.A., Mazzotta, A.S., 2000. Review of studies on the thermal resistance of *Salmonellae*. *J. Food Prot.* 63, 779-795.
- Elmnasser, N., Guillou, S., Leroi, F., Orange, N., Bakhrouf, A., Federighi, M., 2007. Pulsed-light system as a novel food decontamination technology: a review. *Can. J. Microbiol.* 53, 813–821.
- European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control, 2016. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA J.* 14, 4634
- Fehlhaber, K., Alter, T., 1999. Mikrobielle Folgen prämortaler Belastungen bei Schlachtschweinen. *Fleischwirtschaft* 79 (6), 86-90.
- Fehlhaber, K., Krüger, A., Schnabel, M., Krutsch, H.W., 1996. Untersuchungen zum *Salmonella*-Vorkommen bei tauglich beurteilten Schlachtschweinen. *Fleischwirtschaft* 79 (11), 1167-1169.
- Fernández, M., Hospital, X.F., Arias, K., Hierro, E., 2016. Application of pulsed light to sliced cheese: effect on *Listeria* inactivation, sensory quality and volatile profile. *Food Bioprocess Technol.* 9, DOI: 10.1007/s11947-016-1721-2.
- Ferrario, M, Alzamora, S.M., Guerrero, S., 2015. Study of inactivation of spoilage microorganisms in apple juice by pulsed light and ultrasound. *Food Microbiol.* 46, 635-642.
- Ferrer-Savall, J., Bidot, C., Leblanc-Maridor, M, Belloc, C., Touzeau, S., 2016. Modelling *Salmonella* transmission among pigs from farm to slaughterhouse: interplay between management variability and epidemiological uncertainty. *Int. J. Food Microbiol.* 229, 33-43.
- Fredriksson-Ahomaa, M., 2000. Prevalence and characterization of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pig tonsils from different slaughterhouses. *Food Microbiol.* 17, 93–101.
- Fredriksson-Ahomaa, M., Stolle, A., Stephan, R., 2007. Prevalence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pigs slaughtered at a Swiss abattoir. *Int. J. Food Microbiol.* 119, 207–212.
- Ganan, M., Hierro, E., Hospital, X.F., Barroso, E., Fernández, M., 2013. Use of pulsed light to increase the safety of ready-to-eat cured meat products. *Food Control* 32, 512–517.
- Gómez-López, V.M., Devlieghere, F., Bonduelle, V., Debevere, J., 2005. Factors affecting the inactivation of micro-organisms by intense light pulses. *J. Appl. Microbiol.* 99, 460–470.

- Gómez-López, V.M., Ragaert, P., Debevere, J., Devlieghere, F., 2007. Pulsed light for food decontamination: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 18, 464–473.
- Gómez-López, V.M., Koutchma, T., Linden, K., 2012. Ultraviolet and pulsed light processing of fluid foods. In P.J. Cullen, B.K. Tiwari, V.P. Valdramidis (Eds.): *Novel Thermal and Non-thermal Technologies for Fluid Foods*: Elsevier, pp. 185–223.
- Gudelis, V., Luksiene, Z., 2010. Conventional high-power pulsed light source for decontamination of meat from food pathogens at non-thermal conditions. *Lith. J. Phys.* 50. 147-150.
- Gurman, P.M., Ross, T., Holds, G.L., Jarrett, R.G., Kiermeier, A., 2016. Thermal inactivation of *Salmonella* ssp. in pork burger patties. *Int. J. Food Microbiol.* 219, 12-21
- Haughton, P.N., Lyng, J.G., Cronin, D.A., Morgan, D.J., Fanning, S., Whyte, P., 2011. Efficacy of UV light treatment for the microbiological decontamination of chicken, associated packaging, and contact surfaces. *J. Food Prot.* 74, 565–572.
- Hierro, E., Barroso, E., la Hoz, L. de, Ordóñez, J.A., Manzano, S., Fernández, M., 2011. Efficacy of pulsed light for shelf-life extension and inactivation of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat cooked meat products. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 12, 275–281.
- Hierro, E., Ganán, M., Barroso, E., Fernández, M., 2012. Pulsed light treatment for the inactivation of selected pathogens and the shelf-life extension of beef and tuna carpaccio. *Int. J. Food Microbiol.* 158, 42–48.
- Huang, Y., Chen, H., 2014. A novel water-assisted pulsed light processing for decontamination of blueberries. *Food Microbiol.* 40, 1–8.
- Huffman, D.E., Slifko, T.R., Salisbury, K., Rose, J.B., 2000. Inactivation of bacteria, virus and *Cryptosporidium* by a point-of-use device using pulsed broad spectrum white light. *Water Res.* 34, 2491-2498.
- Keklik, N.M., Demirci, A., Puri, V.M., 2009. Inactivation of *Listeria monocytogenes* on unpackaged and vacuum-packaged chicken frankfurters using pulsed UV-light. *J. Food Sci.* 74, 431–439.
- Keklik, N.M., Demirci, A., Puri, V.M., 2010. Decontamination of unpackaged and vacuum-packaged boneless chicken breast with pulsed ultraviolet light. *Poult. Sci.* 89, 570–581.
- Kim, J.H., Seong, P.N., Cho, S.H., Park, B.Y., Hah, K.H., Yu, L.H., Lim, D.G., Hwang, I.H., Kim, D.H., Lee, J.M., Ahn, C.N., 2008. Characterisation of nutritional value for twenty-one pork muscles. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 21, 138-143.
- Kramer, B., Muranyi, P., 2014. Effect of pulsed light on structural and physiological properties of *Listeria innocua* and *Escherichia coli*. *J. Appl. Microbiol.* 116, 596-611.

- Kramer, B., Wunderlich, J., Muranyi, P., 2015. Pulsed light decontamination of endive salad and mung bean sprouts and impact on color and respiration activity. *J. Food Prot.* 78, 340–348.
- Kramer, B., Wunderlich, J., Muranyi, P., 2017. Recent findings in pulsed light disinfection. *J. Appl. Microbiol.* 122, 830-856.
- Krishnamurthy, K., Demirci, A., Irudayaraj, J., 2007. Inactivation of *Staphylococcus aureus* in milk using flow-through pulsed UV-light treatment system. *J. Food Sci.* 72, 233–239.
- Laukkanen, R., 2009. Contamination of carcasses with human pathogenic *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 originates from pigs infected on farms. *Foodborne Pathog. Dis.* 6, 681-688.
- Leyman, B., Boyen, F., Verbrugghe, E, van Parys, A., Haesebrouck, F., Pasmans, F., 2012. Vaccination of pigs reduces *Salmonella* typhimurium numbers in a model mimicking pre-slaughter stress. *Vet. J.* 194, 250-252.
- Lim, Hee Sun, Lee, Seung-Chul, Won, Young Ho, Lee, Jee-Bum, 2014. The efficacy of intense pulsed light for treating erythematotelangiectatic rosacea is related to severity and age. *Ann. Dermatol.* 26, 491.
- Ludewig, M., Pröhl, J., Fehlhaber, K., 2001. Verbreitung von Salmonellen in der Schweinflischerzeugungskette im Freistaat Sachsen. *Fleischwirtschaft* 81 (6), 95-98.
- Methner, U., Rammler, N., Fehlhaber, K., Rösler, U., 2011. *Salmonella* status of pigs at slaughter — bacteriological and serological analysis. *Int. J. Food Microbiol.* 151, 15–20.
- Nesbakken, T., Iversen, T., Eckner, K., Lium, B., 2006. Testing of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pig herds based on the natural dynamic of infection. *Int. J. Food Microbiol.* 111, 99-104.
- Nicorescu, I., Nyugen, B., Moreau-Ferret, M., Agoulon, A., Chevalier, S., Orange, N., 2013. Pulsed light inactivation of *Bacillus subtilis* vegetative cells in suspensions and spices. *Food Control* 31, 151-157.
- Nicorescu, I., Nyugen, B., Chevalier, S., Orange, N., 2014. Effects of pulsed light on the organoleptic properties and shelf-life extension of pork and salmon. *Food Control* 44, 138-145.
- Pasceviciute, E., Buchovec, I., Luksiene, Z., 2011. High-power pulsed light for decontamination of chicken from food pathogens: a study on antimicrobial efficiency and organoleptic properties. *J. Food Saf.* 31, 61–68.
- Rajkovic, A., Tomasevic, I., Meulenaer, B. de, Devlieghere, F., 2017. The effect of pulsed UV light on *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxin A on sliced fermented salami and its chemical quality. *Food Control* 73, 829-837.

Robert Koch Institut, 2017. Gemeinsamer Bericht des BVL und RKI zu lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüchen in Deutschland, 2015. Epidemiologisches Bulletin 3/17.

Rosenbauer, H., 2002. Untersuchungen zur Ermittlung des Einflusses unterschiedlicher Dosierungen von DL- α -Tocopherylacetat beim Mastschwein auf die Qualität daraus gewonnener Lebensmittel. PhD thesis. Martin-Luther University of Halle-Wittenberg.

Rowan, N.J., Valdramidis, V.,P., Gómez-López, V.M., 2015. A review of quantitative methods to describe efficacy of pulsed light generated inactivation data that embraces the occurrence of viable but non culturable microorganisms. Trends Food Sci. Technol. 44, 79-92.

Schnaeckel, W., Micklisch, I., Krickmeier, J., Schnaeckel, D., 2014. Mechanical degreasing of pork skin: development of a process. Fleischwirtschaft 94, 100-105.

Seidler, T., Alter, T., Krüger, M., Fehlhaber, K., 2001. Transport stress - consequences for bacterial translocation, endogenous contamination and bactericidal activity of serum of slaughter pigs. Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. 114, 375–377.

Syamaladevi, R.M., Lu, X., Sablani, S.S., Insan, S.K., Adhikari, A., Killinger, K., 2013. Inactivation of *Escherichia coli* population on fruit surfaces using ultraviolet-C light: influence of fruit surface characteristics. Food Bioprocess Tech. 6, 2959–2973.

Syamaladevi, R. M., Adhikari, A., Lupien, S. L., Dugan, F., Bhunia, K., Dhingra, A., Sablani, S. S., 2015. Ultraviolet-C light inactivation of *Penicillium expansum* on fruit surfaces. Food Control 50, 297–303.

Tarlagdis, B.G., Watts, B.M., Younathan, M.T., 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. J. Am. Oil Chem. Soc. 37, 44–48.

Tomasevic, I., 2015a. The effect of intense light pulses on the sensory quality and instrumental color of meat from different animal breeds. Biotechn. Anim. Husbandry 31, 273-281.

Tomasevic, I., Rajkovic, A., 2015b. The sensory quality of meat, game, poultry, seafood and meat products as affected by intense light pulses: A systematic review. Procedia Food Sci. 5, 285-288.

Uesugi, A.R., Woodling, S.E., Moraru, C.I., 2007. Inactivation kinetics and factors of viability in the pulsed light treatment of *Listeria innocua* cells. J. Food Prot. 70, 2518-2525.

van Damme, I., Berkvens, D., Vanantwerpen, G., Baré, J., Houf, K., Wauters, G., Zutter, L. de, 2015. Contamination of freshly slaughtered pig carcasses with enteropathogenic *Yersinia* spp.: distribution, quantification and identification of risk factors. Int. J. Food Microbiol. 2, 33-40.

Vanantwerpen, G., 2014. Within-batch prevalence and quantification of human pathogenic *Yersinia enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis* in tonsils of pigs at slaughter. Vet. Microbiol. 169, 223-227.

Vanantwerpen, G., Berkvens, D., Zutter, L. de, Houf, K., 2017. Assessment of factors influencing the within-batch seroprevalence of human enteropathogenic *Yersinia* ssp. of pigs at slaughter age and the analogy with microbiology. Prev. Vet. Med. 137, 93-96.

Wambura, P, Verghese, M., 2011. Effect of pulsed ultraviolet light on quality of sliced ham. LWT-Food Science and Technology 44, 2173-2179.

Wong, E., Linton, R.H., Gerrard, D.E., 1998. Reduction of *Escherichia coli* and *Salmonella* senftenberg on pork skin and pork muscle using ultraviolet light. Food Microbiol. 15, 415–423.

Yaun, B.R., Sumner, S.S., Eifert, J.D., Marcy, J.E, 2004. Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. Int. J. Food Microbiol. 90, 1–8.

4 ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

4.1 Eignung des Verfahrens „Gepulstes Licht“ zur Dekontamination von Schwarte und Schweinelachs

In der wissenschaftlichen Literatur liegt eine Vielzahl von Studien vor, die eine bakterizide Wirkung von GL gegenüber verschiedenen pathogenen Erregern auf Lebensmitteloberflächen belegen. NICORESCU et al. (2014) reduzierten beispielsweise die mesophile aerobe Gesamtkeimzahl und *P. fluorescens* auf rohem Schweinefleisch und Schweinebraten um 1 log Stufe. Bislang wurden die wichtigsten zoonotischen Erreger *S. Typhimurium* und *Y. enterocolitica*, welche hauptsächlich durch den Verzehr rohen Schweinefleisches übertragen werden, diesbezüglich nicht untersucht. Aufgrund der Tatsache, dass die Salmonellose und Yersiniose seit vielen Jahren die zweit- und dritthäufigsten Zoonosen in Deutschland und Europa sind, wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Wirksamkeit von GL gegenüber diesen beiden Pathogenen getestet. Als Matrices wurden verschiedene Teilstücke des Schweines gewählt. Zum einen Schwarte, da diese im Zuge des Transportes, in Wartebuchten am Schlachthof und während des Schlachtprozesses als erstes mit den Erregern in Kontakt kommt und zum anderen Schweinelachs als Vertreter für Schweinefleisch. Die Daten belegen erstmals, dass mit einer GL Behandlung eine signifikante Erregerreduktion auf den genannten Oberflächen erzielt wird. Auf Schwarte wurde eine maximale Reduktion von 3,16 log-Stufen für *S.* (Reduktion um 99,90 %) innerhalb von 20 s und 4,37 log Stufen für *Y.* (Reduktion um 99,99 %) innerhalb von 15 s erreicht. Diese Werte sind deutlich höher als jene von NICORESCU et al. (2014), welche die Gesamtkeimzahl und *P. fluorescens* auf Schweinefleisch reduzierten (siehe Tabelle 1). Auf Schweinelachs konnten für beide Pathogene 1,7 log Stufen (Reduktion um 90 %) erzielt werden, was mit dem Ergebnis von GANAN et al. (2013) bei der Reduktion von *S. Typhimurium* auf verzehrsfertiger Lende (siehe Tabelle 1) vergleichbar ist. Der Dekontaminationserfolg ist demzufolge abhängig von der Matrix, insbesondere von der Oberflächentopografie. Die erzielten Werte sind mit denen herkömmlicher Verfahren vergleichbar, bzw. übertreffen diese und legen eine grundsätzliche Eignung des Verfahrens für die Entkeimung von Schwarte und Schweinelachs nahe. Zu berücksichtigen sind hier allerdings auch die qualitativen Aspekte: Eine forcierte Fettoxidation konnte nicht nachgewiesen werden. GL-Behandlungen mit hohen Energieeinträgen führten allerdings zu einer Veränderung von Produktfarbe und Geruch. Eine deutlich wahrnehmbare Farbveränderung ($\Delta E^*_{ab} > 3$) war auf Schwarte ab 7,36 J/cm² sichtbar. Eine Abnahme des roten Farbanteils war ab 9,66 J/cm² statistisch signifikant. Durch die Wahl niedrigerer Fluences können farbliche Veränderungen allerdings umgangen werden. Da der Großteil der Inaktivierung innerhalb der ersten Sekunde der GL-Behandlung auftritt (entspricht Fluences von 0,52, 0,64 und 0,84 J/cm²), wobei auf Schwarte 99 % und auf Schweinelachs 90 % der Erreger reduziert wurden, können die Ergebnisse von Anwendern auf Schlachthöfen bereits zufriedenstellend bewertet werden. Auf diese Weise kann ein Kompromiss zwischen ausreichend hoher Dekontamination und Erhalt der Produktqualität gefunden werden.

ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

Kritisch sind auftretende geruchliche Abweichungen der Matrices bei Energieflüssen $>0,52 \text{ J/cm}^2$ zu sehen. Einzig eine Fluence von $0,52 \text{ J/cm}^2$ auf Schwarte hatte einen positiv wahrnehmbaren Effekt auf den Geruch. Die Panel-Mitglieder nahmen die Schwarte als angenehm riechend wahr und beschrieben sie als weniger fettig im Vergleich zur unbehandelten Schwarte. Alle anderen getesteten Fluences führten zu einem chemisch-stechenden bis säuerlichen Geruch beider Produkte.

Bezogen auf die zeitnahe praktische Umsetzung am Schlachthof ist aus jetziger Sicht nur die Behandlung von Schwarte (die Außenseite der Schweineschlachttierkörper ohne exponierte Fleischanteile) mit Fluences $\leq 0,52 \text{ J/cm}^2$ realistisch. Aufgrund der auftretenden Geruchs- und Farbveränderungen kann Fleisch nur mit sehr niedrigen Energien behandelt werden, was jedoch mit niedrigen Reduktionsraten verbunden und daher nicht zielführend ist. Deshalb müssen weiterführende Untersuchungen bezüglich der Ursache der geruchlichen Veränderungen durchgeführt werden. Verschiedene Arbeitsgruppen stellten ebenfalls geruchliche Abweichungen infolge einer GL-Behandlung fest (PASKEVICIUTE et al. 2011; GANAN et al. 2013; NICORESCU et al. 2014; TOMASEVIC 2015; TOMASEVIC und RAJKOVIC 2015). Als Ursache wird neben Ozon und Stickstoffoxiden auch die Entstehung neuer chemischer Verbindungen aus Fleischprotein oder -fett durch die aufgenommene Strahlungsenergie, diskutiert (BINTSIS et al. 2000). MCLEOD et al. (2018), welche Hähnchenbrustfilet mit GL bestrahlten, assoziierten einen verbrannten Geruch mit dem mittels Gaschromatographie detektierten Anstieg von Dimethyltrisulfid, 2-Pentanon und 1-Pentanol. Entstehendes Ozon kann durch eine Behandlung mit GL im Vakuum vermieden, über spezielle Pumpen abgesaugt oder ein Kontakt mit dem Produkt via UV-durchlässigen Verpackungsmaterialien (z.B. Polypropylen) verhindert werden. Am Schlachttierkörper ist nur die zweite Option praktikabel, die anderen beiden sind bei der Behandlung von Fleischwaren denkbar. Es bliebe zu prüfen, ob die Entstehung anderer flüchtiger Substanzen durch den Einsatz von Filtern, die einen bestimmten Teil der Wellenlängen ausschließen, verhindert werden kann. Bestimmte Wellenlängen sind für die Entstehung neuer Stoffe verantwortlich. Ozon wird beispielsweise nur durch kurzwelliges, hochenergetisches Licht ($< 280 \text{ nm}$) gebildet. Zu bedenken ist hierbei, dass der Ausschluss bestimmter Wellenlängen einen Einfluss auf die Reduktionserfolge haben kann. Folglich besteht im Bereich der Verfahrensoptimierung noch Forschungsbedarf. Ein weiterer Aspekt, der bis dato unzureichend beleuchtet wurde, ist die Bildung toxischer Nebenprodukte. DUNN et al. (1995) stellten allerdings fest, dass es selbst nach 30 J/cm^2 keinen Unterschied zwischen Proben und unbehandelten Kontrollen von „Frankfurtern“ bezüglich Benzopyrenen und Nitrosaminen gab.

Weiterhin wäre zu beachten, ob abhängig vom Bestrahlungszeitpunkt, die Inaktivierung verbessert werden kann. In eigenen Untersuchungen wurde die Bestrahlung 30 Minuten nach der Inokulation vorgenommen, um eine Behandlung des Schlachttierkörpers kurz vor der Kühlung (also ca. 30 Minuten nach der Eviszierung) zu simulieren. Laut RAJKOVIC et al. (2010) (siehe 2.3.2) ist eine GL-Behandlung jedoch so schnell wie möglich nach einer Kontamination vorzunehmen (innerhalb von 60 s), um einer Anhaftung der Bakterien an die Matrix zuvor zu kommen. Abhängig von den Ergebnissen wäre zu überlegen, an welcher

ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

Stelle des Schlachtprozesses ein GL-Gerät am besten zu implementieren wäre. Unter der Annahme, dass eine direkte Behandlung nach einer Kontamination ratsam ist, wäre der Zeitpunkt nach der Eviszeration denkbar. Diese stellt einen besonders kritischen Moment am Schlachtband dar, da es hierbei zur Verletzung des Darmpaketes und somit zum Austritt und Versprengen von Darmbakterien auf die Schlachttierkörperoberfläche kommen kann (BOTTELDOORN et al. 2003). Wird direkt an dieser Stelle gepulst, kann sowohl eine Anhaftung und Vermehrung der Erreger auf der Oberfläche als auch eine Kreuzkontamination (Weitertragen auf noch Erreger-freie Schlachttierkörper) über Messer der Schlachthofarbeiter oder Berührung der Schlachttierkörper untereinander vermieden werden (BORCH et al. 1996; BOTTELDOORN et al. 2003). Gleichzeitig kommt es zu keiner Bestrahlung der Fleischoberfläche, da die Karkassen noch nicht in zwei Hälften zerlegt wurden und somit die oben erwähnten Geruchsabweichungen verhindert werden können.

Ein weiterer Punkt, der im Zuge der Implementierung des Verfahrens in die Praxis zu beachten ist, sind sogenannte „Abschattungseffekte“ (GÓMEZ-LÓPEZ et al. 2007). Das heißt, dass die GL-Strahlen unter Umständen nicht die gesamte Lebensmittelmatrix ausleuchten können, da auch die Topographie derselben eine wichtige Rolle spielt. Aufgrund von Spalten und Falten am Schlachttierkörper (Achsel, Kniefalte) werden Bereiche nicht vom GL erreicht und können ein Risiko darstellen, da sich dort etwaige Bakterien vermehren und im Verlauf des Zerlegeprozesses über Kreuzkontamination verbreiten können. Lösbar ist dieses Problem über den Einsatz von Reflektoren oder sich drehende Schlachttierkörper, die ein Vordringen des GL auch an unzugängliche Stellen ermöglichen.

Diese Überlegungen führen zu der Schlussfolgerung, das Verfahren durchaus in der Praxis anzuwenden. In diesem Zuge wird eine Kontrolle des Dekontaminationserfolges als „Control Point“ am Schlachtband notwendig. Möglich wäre die Integrierung eines Energie-Messgerätes auf Höhe der Schlachttieroberfläche, um eine ausreichend hohe Fluence, die für eine Dekontamination erforderlich ist, zu gewährleisten. Diese kann an der Außenseite der GL-Kammer auf einer Anzeige wiedergegeben, die Werte über den Tag gespeichert, ausgedruckt und somit dokumentiert werden.

Überaus wichtig für mögliche Anwender des Verfahrens (Schlachthof) ist zudem eine Kosten-Nutzen-Aufstellung. Dabei muss auch die Lebensdauer der Puls Lampen in Betracht gezogen werden. Realistisch ist ein Lampenwechsel in sechsmonatigen Abständen (Kosten: 1000 €/Puls Lampe). Das Gerät muss angepasst an den Schlachthofablauf entworfen, an passender Stelle integriert werden und für die elektronische Überwachung (Fluence-Überprüfung, Warnung bei Lampenausfall) gesorgt werden.

Darüber hinaus muss das GL zum Schutz der Angestellten von einer geschlossenen Hülle umgeben sein und der GL-Verantwortliche eine UV-Schutzbrille tragen, da eine direkte UV-Strahlung zu einer „Keratoconjunctivitis photoelectrica“, verbunden mit erheblichen Schmerzen, Tränenfluss und Blepharospasmus, führen kann. Gegebenenfalls entstehendes Ozon muss ebenfalls zur Einhaltung des Arbeitsschutzes unschädlich beseitigt werden (Saugpumpe, Ableiten der Luft über geschlossene Rohrsysteme), weil es ab Konzentrationen von 200 µg/m³ zu Schwindel und Kopfschmerzen sowie Atemwegserkrankungen kommen kann.

ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

Ungeachtet der Vor- und Nachteile, die das Verfahren aufweist, bedarf es vor der Anwendung vermutlich einer Zulassung nach § 8 LFGB (Lebens- und Futtermittelgesetzbuch). In den USA ist GL bereits seit 2013 für die Oberflächenentkeimung von Lebensmitteln erlaubt (Code of Federal Regulations § 179.41). Im Gegensatz dazu sind in der EU, abgesehen von Trinkwasser, keine anderen Dekontaminationsverfahren für Schweineschlachttierkörper zugelassen [VO (EG) 853/2004]. Aufgrund des hohen UV-C Anteils wird es ggf. unter die Novel Food Verordnung [VO (EG) 2015/2283] und die Lebensmittelbestrahlungsverordnung (LMBestVO) fallen.

4.2 Vergleich von GL mit anderen Dekontaminationsverfahren

GL bietet wie alle anderen Verfahren Vor- als auch Nachteile. Im Vergleich mit möglichen anderen Dekontaminationsstrategien ist es bezüglich der Reduktionsraten vergleichbar effektiv.

4.2.1 Chemische Dekontamination

Eine Anwendung von 2 - 4 %-iger **Milchsäure**, welche in der EU für Schlachtkörper, Schlachtkörperhälften und -viertel von einheimischen Rindern seit 2013 zugelassen ist [VO (EG) 101/2013], erzielt zwar vergleichbare Inaktivierungen (*Salmonella*) von 1,5-2 log-Stufen auf Rindfleischoberflächen (SOHAIB et al. 2016), führt jedoch zu erhöhtem Wasserverbrauch und zu Rückständen auf der Fleischoberfläche (EFSA 2011). Ähnlich zu bewerten ist der Einsatz anderer organischer Säuren wie **Essig-** und **Zitronensäure** sowie **Chlordioxid**, **Trinatriumphosphat**, **saures Natriumchlorit** und **Peroxy Säuren**. Gängigerweise in den USA angewandt (EFSA 2008), wurden die vier letztgenannten Substanzen im Jahr 2008 vom Bundesrat zur Dekontamination von Geflügelfleisch abgelehnt, da sich bisherige Methoden und das EU-Hygienepaket bewährt hätten (ELLERBROEK 2014). Zu erwartende Nachteile könnten eine Wasseraufnahme ins Fleisch, Farbveränderungen und ein beschleunigter pH-Wert-Abfall in der Muskulatur sein (BfR 2006). GL hingegen birgt den Vorteil, dass es wassersparend, berührungslos und rückstandsfrei ist.

4.2.2 Physikalische Dekontamination

Aufgrund der Tatsache, dass die Hauptwirkung des GL auf dem photochemischen Effekt beruht, weist das Verfahren im Gegensatz zu **Infrarotlicht** (780 nm-1 mm) eine geringe thermische Gesamtbelastung auf. Zwar konnten in eigenen Untersuchungen mit Infrarotlicht Reduktionen bis zu 3,5 log-Stufen erreicht werden (nicht veröffentlicht), jedoch hatte dies eine deutliche Veränderung der Textur (wie gekocht) und Farbe aufgrund hoher Temperaturen zur Folge. Kürzere Bestrahlungszeiten führten nicht zu signifikanten Inaktivierungen, wodurch sich das Verfahren als nicht geeignet erwies. Eine Behandlung von Fleischwaren

mit kontinuierlichem UV-Licht (CW) könnte gleichermaßen in Betracht gezogen werden. Seine Anwendung ist in Deutschland bereits für Trinkwasser, die Oberfläche von Obst und Gemüse, Hartkäse bei der Lagerung und die bei der Entkeimung von Luft auftretende, indirekte Einwirkung auf Lebensmittel zugelassen (LMBestV), [VO (VO) 2015/2283]]. WONG et al. (1998) konnten *Salmonella* Senftenberg auf Schwarte und rohem Schweinefleisch durch den Einsatz einer monochromatischen (254 ± 3 nm) UV-Lampe um 3,6 respektive 2,0 log Stufen bei 0,15 bzw. 1,92 J/cm² innerhalb von 32 min inaktivieren. Ein wesentlicher Unterschied zum GL sind diese längeren Behandlungszeiten, welche nötig sind, um signifikante Bakterienreduktionen zu erzielen, was den Einsatz am Schlachtband ausschließt, jedoch ist eine Anwendung während der Lagerung (ähnlich wie beim Hartkäse) im Kühlhaus realisierbar. Ähnlich wie GL ist auch **ionisierende Strahlung** (wie Gammastrahlung aus leicht zerfallenden Radioisotopen Cobalt 60 und Cäsium 137) in der Lage, Nukleinsäuren wirksam zu schädigen, ohne gravierende chemische Veränderungen oder Temperaturanstiege zu verursachen. Allerdings bedarf deren Anwendung auf Schlachtkörpern zunächst einer Zulassung nach Antrag beim Europäischen Parlament zur Aufnahme in die Positivliste mit Lebensmitteln und Lebensmittelbestandteilen, die mit ionisierenden Strahlen behandelt werden dürfen (Richtlinie 1999/3/EG) und die deutschen Verbraucher nehmen gegenüber ionisierender Strahlung eine relativ ablehnende Haltung ein. Derzeit ist das Verfahren in Deutschland nur für aromatische Gewürze und Kräuter (max. durchschnittlich absorbierte Gesamtdosis: 10 kGy) zugelassen. Die Anwendung von **kaltem Plasma** zur Dekontamination von Schweinekarkassen ist ebenfalls denkbar. Plasmen sind ionisierte Gase, die aus Atomen, Molekülen, Radikalen und angeregten, geladenen Partikeln bestehen. Bei Raumtemperatur generiert, ist es für hitzeempfindliche Fleischprodukte ideal, da die antimikrobielle Wirkung auf der Reaktion von Radikalen, reaktiver Spezies und geladener Teilchen mit Zellmembranen und nicht auf Wärme beruht. Auch hierbei konnte in einer Studie mit Schweinelachsproben nach einer 2 x 2,5-minütigen Behandlung mit Luft als Prozessgas die Keimzahl, während einer 16-tägigen Lagerung, auf 2 log gehalten werden (FRÖHLING et al. 2012). Dennoch bleibt es wegen seiner mehrminütigen Dauer weit hinter dem GL zurück, was innerhalb einer Sekunde 2 log-Stufen reduziert und somit am sich zügig fortbewegenden Schlachtband deutlich besser geeignet wäre.

4.2.3 Biologische Dekontamination

Als weitere Strategie ist außerdem die Nutzung von **Bakteriophagen** in der Schlachtung möglich. Hierbei handelt es sich um ubiquitär vorkommende Viren, die in der Lage sind, Bakterienzellen zu infizieren und zu lysieren. Dieses Verfahren ist am ehesten als Konkurrenz zum GL zu sehen, da es hochspezifisch wirkt und somit keinen Einfluss auf die native Flora hat. Es ist ebenso rückstandsfrei, verursacht keine organoleptischen Veränderungen und bleibt kostengünstig (HUGAS und TSIGARIDA 2008). Der Reduktionserfolg ist auch hier mit 2 log-Stufen auf ready-to-eat Produkten (GÜNTHER et al. 2012) mit GL vergleichbar. Nachteilig scheint hierbei die Möglichkeit eines Virulenzgentransfers, der Bildung tempererter Phagen oder der Selektion phagenresistenter Mutanten (GOODE und ALLEN 2003)

zu sein. Einzelne Bakteriophagensuspensionen wie Listex™ P100 (gegen alle Stämme von *Listeria monocytogenes*) und Salmo-nex/PhageGuard S (gegen alle Serovaren von *Salmonella*) sind bereits für die Applikation auf Fleisch und Fleischprodukten in den USA (seit 2007), Kanada (seit 2010), Australien und Neuseeland (seit 2012) zugelassen (EFSA 2016).

4.3 Alternativer Einsatz von GL

Alternativ zur Behandlung von Schlachttierkörpern könnte GL zur Dekontamination von Oberflächen, die mit solchen in Berührung kommen, genutzt werden. In Kapitel 2.3.3. wurde bereits ausführlich erklärt, dass der Erfolg einer GL-Behandlung maßgeblich von der Matrix bestimmt wird. Es wurde herausgestellt, dass protein- und fetthaltige Oberflächen (zutreffend auf Schwarte und Schweinelachs) aufgrund ihrer Topographie und UV-Absorbierung eine Herausforderung darstellen. Auf glatten Oberflächen (ohne Ritzen und/oder Spalten, die keine Abschattung ermöglichen) sind sehr hohe Reduktionen von bis zu 7 log-Stufen erreichbar (DUNN et al. 1995; LUKSIENE et al. 2007; HIERRO et al. 2009; HIERRO et al. 2012; CHEIGH et al. 2013; LASAGABASTER und MARTINEZ DE MARANON 2014). Vorstellbar wäre somit der Einsatz von GL zur Schlachtband- oder Messerdesinfektion nach Entfernung organischer Rückstände (mechanisch oder Spülung mit Trinkwasser). Auf diese Weise werden Produktveränderungen von vornherein ausgeschlossen und der Fokus auf die Vermeidung von Kreuzkontaminationen gelegt. RAJKOVIC et al. (2010) testeten Fleischmesser, welche sie vorher in einen Fleischextrakt getaucht oder zum Schneiden verschiedener Fleischprodukte (Schweinefleisch, Pariser Wurst, trocken-fermentierte Wurst) genutzt hatten. Daraufhin inokulierten sie die Messer mit *L. monocytogenes* oder *E.coli* O157:H7 und bestrahlten sie mit GL. Die Reduktionen der Messer mit Fleischextrakt waren aufgrund des geringen Gehaltes an Protein (5 %) und Fett (0 %) deutlich höher (~ 6 log) als bei den Fleischprodukten (3,58-4,69 log). Eine Messerdesinfektion mittels GL sollte in der Praxis dieselben Voraussetzungen bezüglich des Arbeitsschutzes erfüllen wie eine Kammer zur Dekontamination von Schweineschlachttierkörpern.

4.4 Schlussfolgerungen

Zusammenfassend sind aus den durchgeführten Untersuchungen folgende Schlussfolgerungen abzuleiten:

- GL ist in der Lage, die Pathogene *S. Typhimurium* um 3.16 log innerhalb von 20 s bei einem Abstand von 10.8 cm und *Y. enterocolitica* um 4.37 log innerhalb von 15 s bei einem Abstand von 8.3 cm auf Schwarte und um 1.7 log innerhalb von 20 s bei einem Abstand von 8.3 bzw. 10.8 cm auf Schweinelachs signifikant (mind. um 90 %) zu reduzieren.
- Fluences von $\geq 7,36 \text{ J/cm}^2$ rufen bei Schwarte deutlich wahrnehmbare Farbveränderungen hervor. Bei Schweinelachs kommt es bei Fluences von $\geq 9,66 \text{ J/cm}^2$

ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

zu einem deutlichen Verlust der roten Farbe. Eine signifikante Forcierung der Fettoxidation konnte während einer Lagerung von 10 Tagen nicht festgestellt werden.

- Geruchliche Abweichungen, traten bei allen getesteten Parametereinstellungen, außer bei 0,52 J/cm² bei Schwarte, auf. Zum Ausschluss von Farb- und Geruchsveränderungen sollte nur Schwarte, (also die Außenseite der Schweineschlachttierkörper, keine Fleischanteile) mit sehr geringen Fluences ($\leq 0,52$ J/cm²) behandelt werden.
- Unter bestimmten Voraussetzungen ist die Anwendung von GL zur Schweineschlachttierkörperdekontamination am Schlachthof denkbar. Dazu gehört eine konsequente Gewährleistung des Arbeitsschutzes. Die GL-Anlage sollte ein geschlossenes System darstellen, welches ein Entweichen von Strahlung verhindert. Darüber hinaus muss entstehendes Ozon unschädlich beseitigt werden. Bindend ist zudem das Tragen einer UV-Schutzbrille in der unmittelbaren Umgebung des GL. Die Anlage kann direkt nach der Eviszierung implementiert werden, um eine Anhaftung der Mikroorganismen an die Matrix zu vermeiden und bestmögliche Reduktionen zu erzielen.
- Abschließend ist hervorzuheben, dass eine Anwendung von Dekontaminationsverfahren am Schlachthof (z. B. GL) als unterstützende Maßnahme zur Bekämpfung von Lebensmittelinfektionserregern zu betrachten ist. Sie darf unter keinen Umständen Hygienemaßnahmen ersetzen. Prioritär bleibt die Einhaltung der guten Hygienepaxis nach [VOen (EG) 852-3/2004].

5 ZUSAMMENFASSUNG

Franziska Koch

Inaktivierung von *Salmonella* Typhimurium und *Yersinia enterocolitica* auf Schwarte und Schweinelachs mittels gepulsten Lichts

Institut für Lebensmittelhygiene

Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Eingereicht im Oktober 2019

56 Seiten, 7 Tabellen, 5 Abbildungen, 157 Literaturangaben, 1 Anhang

Schlüsselwörter: gepulstes Breitspektrumlicht, *Salmonella* Typhimurium, *Yersinia enterocolitica*, Schweinefleisch, Lipidperoxidation, mikrobielle Reduktion, sensorische Analyse

Einleitung: Salmonellen und Yersinien haben als zweit- und dritthäufigste Verursacher bakterieller Gastroenteritiden in Deutschland und Europa im Jahr 2017 eine große Bedeutung als Lebensmittelinfektionserreger. Übertragen werden sie hauptsächlich durch den Verzehr roher, unzureichend gekühlter oder ungenügend erhitzter Schweinefleisch-erzeugnisse (Schweinemetts, Hackepeter, kurz gereifte Rohwürste). Der Eintrag in die Lebensmittelkette erfolgt über symptomlose Trägetiere, die am Schlachthof in der Lebend- und Fleischuntersuchung nicht als solche identifizierbar sind. Durch Kreuzkontaminationen kann es zur Verschleppung der Erreger auf die Schlachttierkörperoberflächen eigentlich gesunder Tiere kommen. Die vorherrschenden Hygienemaßnahmen am Schlachthof haben bisher nicht zu einer Verringerung des Auftretens dieser Bakterien geführt. Alternativ könnte gepulstes Licht (GL) als zusätzliches Dekontaminationsverfahren zum Einsatz kommen. Dessen antimikrobielle Wirksamkeit wurde bereits in zahlreichen Studien nachgewiesen. In der Literatur fehlten jedoch bislang Daten zur Inaktivierung von *Salmonella* ssp. auf Schwarte und Schweinelachs. Bezüglich *Yersinia* ssp. lagen noch gar keine Studien vor.

Ziel der Untersuchungen: Ziel dieser Arbeit war es, die Inaktivierung beider Erreger auf oben genannten Matrices zu testen und, unter Berücksichtigung chemischer und sensorischer Attribute der Produkte sowie die Eignung des Verfahrens für die Praxis abzuschätzen.

Material und Methoden: Für die Untersuchungen mit künstlich inokulierten Schwarte- und Schweinefleischproben wurden die humanpathogenen Bakterien *S. Typhimurium* und *Y. enterocolitica* (Biotyp 4) verwendet. Die antimikrobielle Wirkung von GL wurde bei Fluences zwischen 0,52 und 19,11 J/cm² geprüft. Farb- bzw. Temperaturveränderungen auf der Probenoberfläche wurden mit Hilfe eines Spektrophotometers (CM 600 d, Konica Minolta) respektive eines Infrarotthermometers (104 IR, Testo) ermittelt. Zur Beurteilung der Lipidoxidation wurde die TBARS-Methode angewandt und die Proben maximal 10 Tage bei 4° C gelagert. Veränderungen bezüglich des Geruchs wurden bei Fluences von 0.52, 4.96 und 12.81 J/cm² mittels eines Konsensprofils beurteilt.

ZUSAMMENFASSUNG

Ergebnisse: Auf Schwarte konnten innerhalb von Sekunden Reduktionen von 1,73-3,16 log (S.) und von 1,48-4,37 log (Y.), auf Schweinelachs hingegen 1,7 log-Stufen für beide Mikroorganismen erreicht werden. Moderate bis starke Behandlungsregime ($\geq 7,36 \text{ J/cm}^2$) führten zu einer deutlich wahrnehmbaren Farbveränderung ($E^*_{ab} \geq 3$) von Schwarte, ab $9,66 \text{ J/cm}^2$ zu einem signifikanten Verlust des roten Farbanteils von Schweinelachs. Zur Bewertung einer forcierten Fettoxidation wurde Malondialdehyd (MDA) in den Proben quantitativ bestimmt. Keine der getesteten Einstellungen hatte eine Überschreitung des Grenzwertes von $0,5 \mu\text{g/g}$, ab dem Testpersonen die Produkte als ranzig wahrnehmen, zur Folge. Eine Überprüfung des Geruches erfolgte anhand von drei getesteten Fluences, die eine niedrige ($0,52 \text{ J/cm}^2$), moderate ($4,96 \text{ J/cm}^2$) und starke ($12,81 \text{ J/cm}^2$) Behandlung repräsentieren sollten. Mit $0,52 \text{ J/cm}^2$ bestrahlte Schwarte wurde von den Panel-Mitgliedern als weniger nach Schwein und weniger fettig riechend bewertet und somit als angenehm empfunden, ansonsten wurden chemische Gerüche wahrgenommen.

Schlussfolgerungen: Aus den erzielten Daten geht hervor, dass sich gepulstes Licht in niedrigen Dosen ($\leq 0,52 \text{ J/cm}^2$) zur Dekontamination von Schwarte eignet. Praktisch umsetzbar wäre dies am Schlachthof als geschlossene Behandlungskammer, unmittelbar nach der Eviszeration. Somit könnte der noch nicht geteilte Schlachtkörper oberflächlich behandelt werden, ohne das unter der Haut befindliche Fleisch zu erreichen und die oben genannten Veränderungen hervorzurufen. Notwendig ist hierbei die Gewährleistung des Arbeitsschutzes. In diesem Zusammenhang muss entstehendes Ozon unschädlich beseitigt werden und das Tragen einer UV-Schutzbrille in der unmittelbaren Umgebung des Gerätes angeordnet werden. Abschließend ist hervorzuheben, dass das GL als zusätzliche, unterstützende Maßnahme zur Bekämpfung von Lebensmittelinfektionserregern zu sehen ist und keine bestehenden Hygienemaßnahmen (gute Hygienepraxis) ersetzen darf. Aufgrund der geringeren Wirksamkeit auf Schweinelachs und den damit verbundenen geruchlichen Veränderungen ist eine Applikation auf Schweinefleisch ohne weiterführende Untersuchungen nicht zielführend.

6 SUMMARY

Franziska Koch

Inactivation of *Salmonella* Typhimurium and *Yersinia enterocolitica* on pork skin and pork loin by means of pulsed light

Institute of Food Hygiene

Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

Submitted in october 2019

56 pages, 7 tables, 5 figures, 157 references, 1 appendix

Keywords: pulsed broad-spectrum light, *Salmonella* Typhimurium, *Yersinia enterocolitica*, pork meat, lipid peroxidation, microbial reduction, sensory analysis

Introduction: Since *Salmonella* ssp. and pathogenic *Yersinia* ssp. were the second and third most frequent causes for bacterial gastroenteritis in Germany and throughout Europe in 2017 they are of high significance as foodborne infectious agents. They are mainly transmitted by consumption of raw, inadequately cooled or insufficiently heated pork meat products (ground pork, minced pork, shortly ripened raw sausages). Subclinically infected pigs, so-called “carriers”, cannot be detected during ante- and post-mortem inspection in the slaughterhouse. Cross-contamination can lead to bacterial dissemination onto actually S.- or Y.-free carcasses. Prevailing hygienic measures could not reduce bacterial prevalence in the abattoir so far. Thus, pulsed light (PL) may be used as an additional decontamination procedure. Its antimicrobial potential was proven in numerous studies. However, there are no data in the scientific literature about inactivation of *Salmonella* ssp. on pork skin and loin. Moreover, no experiments with *Yersinia* in connection with pulsed light have been performed until now.

Aim of this study: Hence, the aim of this work was to investigate the inactivation of both microorganisms on above-mentioned matrices and to assess the suitability of the PL treatment for implementation in a slaughterhouse considering chemical and sensory alterations of the products.

Materials and Methods: For experiments with artificially inoculated pork skin and loin samples human-pathogenic bacteria *S. Typhimurium* and *Y. enterocolitica* (Biotype 4) were used. The antimicrobial effect of PL was tested at fluences between 0.52 and 19.11 J/cm². Color and temperature changes on the sample surface were determined by means of a spectrophotometer (CM 600 d, Konica Minolta) or an infrared thermometer (104 IR, Testo). The TBARS method was used to assess lipid per-oxidation and the samples were stored at 4° C for a maximum of 10 days. Odor changes were appraised at fluences of 0.52, 4.96 and 12.81 J/cm² using consensus profiling.

Results: On pork skin reductions of 1.73-3.16 log (S.) and of 1.48-4.37 log (Y.) were achieved within seconds. In contrast, on pork loin only 1.7 log of both microorganisms were

SUMMARY

maximally inactivated. Moderate to strong treatments ($\geq 7.36 \text{ J/cm}^2$) led to distinct color changes ($E^*_{ab} \geq 3$) in pork skin, fluences above 9.66 J/cm^2 to a significant loss of red color in pork loin. For evaluation of possible accelerated lipid peroxidation malondialdehyde (MDA) was analyzed quantitatively in samples. None of the tested parameter combinations resulted in threshold value exceedance of $0.5 \mu\text{g MDA/g}$ which is the point where panel members start to perceive products as rancid. Odor appraisal was carried out using three fluences representing a mild (0.52 J/cm^2), moderate (4.96 J/cm^2) and strong (12.81 J/cm^2) treatment. Pork skin treated with 0.52 J/cm^2 was assessed as less porky, less fatty and, thus, pleasant by panel members, apart from that chemical odors were perceived.

Conclusions: From the available data it appears that pulsed light could be used in mild doses ($\leq 0.52 \text{ J/cm}^2$) for pork skin decontamination. Practically, a PL-unit could be designed as a closed chamber, implemented directly after the evisceration in the abattoir. This way, the not yet separated carcass could be treated superficially without reaching the meat surface preventing the above-mentioned alterations. Guarantee of safety at work also plays an important role. Emerging ozone must be evacuated safely and UV-protection glasses should be worn in direct proximity to the PL-system.

Finally, one needs to consider, that PL should be regarded as an additional, supportive measure to control foodborne pathogens and not as a replacement for existing hygiene standards (good hygiene practice). An application on pork meat does not seem to be conducive because of its lower effect on pork loin and the associated odor changes

7 LITERATURVERZEICHNIS

Anderson JG, Rowan NJ, MacGregor SJ, Fouracre RA, Farish O. Inactivation of food-borne enteropathogenic bacteria and spoilage fungi using pulsed-light. *IEEE T Plasma Sci.* 2000;28(1):83–8.

Bank HL, John J, Schmehl MK, Dratch RJ. Bactericidal Effectiveness of modulated UV light. *Appl Environ Microbiol.* 1990;56(12):3888–9.

Barbosa-Cánovas GV, Schaffner DW, Pierson MD, Zhang QH. Pulsed Light Technology. *J Food Sci.* 2000;65:82–5.

Berends BR, Urlings HAP, Snijders JMA, van Knapen F. Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. in pigs. *Int J Food Microbiol.* 1996;30(1-2):37–53.

Berends BR, van Knapen F, Snijders JMA, Mossel DAA. Identification and quantification of risk factors regarding *Salmonella* spp. on pork carcasses. *Int J Food Microbiol.* 1997;36(2-3):199–206.

Bintsis T, Litopoulou-Tzanetaki E, Robinson RK. Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry - a critical review. *J Sci Food Agric.* 2000;80(6):637–45.

Bolton JR, Linden KG. Standardization of Methods for Fluence (UV Dose) Determination in Bench-Scale UV Experiments. *J Environ Eng.* 2003;129:209–15.

Bonardi S, Bassi L, Brindani F, D'Incau M. Prevalence, characterization and antimicrobial susceptibility of *Salmonella enterica* and *Yersinia enterocolitica* in pigs at slaughter in Italy. *Int J Food Microbiol.* 2013;163:248–57.

Borch E, Nesbakken T, Christensen H. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. *Int J Food Microbiol.* 1996;30(1-2):9–25.

Botteldoorn N, Heyndricks M, Rijpens N, Grijspeerdt K, Herman L. *Salmonella* on pig carcasses: positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse. *J Appl Microbiol.* 2003;95:891–903.

Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) 2016. Zoonosen-Monitoring 2015.

Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) 2018. Zoonosen-Monitoring 2017.

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) 2006. Anforderungen an die chemische Dekontamination von Geflügelfleisch - Stellungnahme Nr. 016/2006 des BfR vom 21. Januar 2006.

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) 2018. Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2015 - BfR-Wissenschaft 2018.

LITERATURVERZEICHNIS

Cadet J, Sage E, Douki T. Ultraviolet radiation-mediated damage to cellular DNA. *Mutat Res.* 2005;571(1-2):3–17.

Cheigh C-I. Comparison of intense pulsed light- and ultraviolet (UVC)-induced cell damage in *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7. *Food Control.* 2012;25:654–9.

Cheigh C, Hwang H, Chung M. Intense pulsed light (IPL) and UV-C treatments for inactivating *Listeria monocytogenes* on solid medium and seafoods. *Food Res Int.* 2013;54(1):745–52.

Cleaver JE. Photoreactivation. *DNA Repair.* 2003;2:629–38.

Code of Federal Regulations, Title 21—Food and Drugs, Chapter I—Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services, Subchapter B—Food for Human Consumption, Part 179—Irradiation in the Production, Processing and Handling of Food, Subpart B—Radiation and Radiation Sources, Sec.179.41 Pulsed light for the treatment of food.

Dizdaroglu M, Jaruga P. Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radic Res.* 2012;46(4):382–419.

Dunn JE, Ott T, Clark W. Pulsed-light treatment of food and packaging. *Food Technol.* 1995;49(9):95–8.

Dunn JE. Pulsed light and pulsed electric field for foods and eggs. *Poult Sci.* 1996;75:1133–6.

Ellerbroek L. "Geflügel mit Chemikalien dekontaminiert" Wie viel Milchsäure verträgt der Verbraucher?: Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) (zitiert vom 08.07.2014).

Elmnasser N, Guillou S, Leroi F, Orange N, Bakhrouf A, Federighi M. Pulsed-light system as a novel food decontamination technology: a review. *Can J Microbiol.* 2007;53(7):813–21.

Esbelin J, Mallea S, Ram AF, Carlin F. Role of pigmentation in protecting *Aspergillus niger* conidiospores against pulsed light radiation. *Photochem Photobiol* 2013;89(3):758–61.

European Food Safety Authority (EFSA). Assessment of the possible effect of the four antimicrobial treatment substances on the emergence of antimicrobial resistance: Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards. *EFSA J.* 2008;659:1–26.

European Food Safety Authority (EFSA). EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids. Scientific opinion on the evaluation of the safety and efficacy of lactic acid for the removal of microbial surface contamination of beef carcasses, cuts and trimmings. *EFSA J.* 2011;9(7):2317.

European Food Safety Authority (EFSA). EFSA Panel on Biological Hazards. Evaluation of the safety and efficacy of Listex™ P100 for reduction of pathogens on different ready-to-eat (RTE) food products. *EFSA J.* 2016;14(8):672.

- European Food Safety Authority (EFSA) and European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA J.* 2018;16(12):148.
- Farrell HP, Garvey M, Cormican M, Laffey JG, Rowan NJ. Investigation of critical inter-related factors affecting the efficacy of pulsed light for inactivating clinically relevant bacterial pathogens. *J Appl Microbiol.* 2010;108(5):1494–508.
- Ferrario M. Study of inactivation of spoilage microorganisms in apple juice by pulsed light and ultrasound. *Food Microbiol.* 2015;46:635–42.
- Ferrer Savall J, Bidot C, Leblanc-Maridor M, Belloc C, Touzeau S. Modelling Salmonella transmission among pigs from farm to slaughterhouse: Interplay between management variability and epidemiological uncertainty. *Int J Food Microbiol.* 2016;229:33–43.
- Fine F, Gervais P. Efficiency of Pulsed UV Light for Microbial Decontamination of Food Powders. *J Food Prot.* 2004;67(4):787–92.
- Fredriksson-Ahomaa M. Prevalence and characterization of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pig tonsils from different slaughterhouses. *Food Microbiol.* 2000;17:93–101.
- Fröhling A, Durek J, Schnabel U, Ehlbeck J, Bolling J, Schlüter O. Indirect plasma treatment of fresh pork: Decontamination efficiency and effects on quality attributes. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2012;16:381–90.
- Ganan M, Hierro E, Hospital XF, Barroso E, Fernández M. Use of pulsed light to increase the safety of ready-to-eat cured meat products. *Food Control.* 2013;32(2):512–7.
- Giese N, Darby J. Sensitivity of microorganisms to different wavelengths of UV light: implications on modeling of medium pressure UV systems. *Water Res.* 2000;34:4007–13.
- Gómez-López VM, Devlieghere F, Bonduelle V, Debevere J. Factors affecting the inactivation of micro-organisms by intense light pulses. *J Appl Microbiol.* 2005;99(3):460–70.
- Gómez-López VM, Devlieghere F, Bonduelle V, Debevere J. Intense light pulses decontamination of minimally processed vegetables and their shelf-life. *Int J Food Microbiol.* 2005;103:79–89.
- Gómez-López VM, Ragaert P, Debevere J, Devlieghere F. Pulsed light for food decontamination: a review. *Trends Food Sci Technol.* 2007;18(9):464–73.
- Gómez-López VM, Koutchma T, Linden K. Ultraviolet and pulsed light processing of fluid foods. In: Cullen PJ, Tiwari BK, Valdramidis VP. *Novel thermal and non-thermal technologies for fluid foods*. 1. Aufl. San Diego: Elsevier; 2012. p. 185–223.
- Gómez PL, Garcia-Loredo A, Nieto A, Salvatori DM, Guerrero S, Alzamora SM. Effect of pulsed light combined with an antibrowning pretreatment on quality of fresh cut apple. *Innov Food Sci Emerg Technologies* 2012;16:102–12.

LITERATURVERZEICHNIS

- Goode D, Allen MA. Reduction of Experimental Salmonella and Campylobacter Contamination of Chicken Skin by Application of Lytic Bacteriophages. *Environ Microbiol.* 2003;69(8):5032–6.
- Gudelis V, Lukšienė Ž. Conventional high-power pulsed light source for decontamination of meat from food pathogens at non-thermal conditions. *Lithuan J Phys.* 2010;50(1):147–50.
- Günther S, Herzig O, Fieseler L, Klumpp J, Lössner MJ. Biocontrol of Salmonella Typhimurium in RTE foods with the virulent bacteriophage FO1-E2. *Int J Food Microbiol.* 2012;154:66–72.
- Haughton PN, Lyng JG, Cronin DA, Morgan DJ, Fanning S, Whyte P. Efficacy of UV Light Treatment for the Microbiological Decontamination of Chicken, Associated Packaging, and Contact Surfaces. *J Food Prot.* 2011;74(4):565–72.
- Heinrich V, Zunabovic M, Varzakas T, Bergmair J, Kneifel W. Pulsed Light Treatment of Different Food Types with a Special Focus on Meat: A Critical Review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2016;56(4):591–613.
- Hierro E, Manzano S, Ordóñez JA, de la Hoz L, Fernández M. Inactivation of Salmonella enterica serovar Enteritidis on shell eggs by pulsed light technology. *Int J Food Microbiol.* 2009;135:125–30.
- Hierro E, Barroso E, de la Hoz L, Ordóñez JA, Manzano S, Fernández M. Efficacy of pulsed light for shelf-life extension and inactivation of Listeria monocytogenes on ready-to-eat cooked meat products. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2011;12(3):275–81.
- Hierro E, Ganan M, Barroso E, Fernández M. Pulsed light treatment for the inactivation of selected pathogens and the shelf-life extension of beef and tuna carpaccio. *Int J Food Microbiol.* 2012;158(1):42–8.
- Hillegas SL, Demirci A. Inactivation of Clostridium sporogenes in clover honey by pulsed UV-light treatment. *Agricultural Engineering International: the CIGR J Sci Res Dev.* 2003;5(Manuscript FP):3–9.
- Hollósý F. Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron.* 2002;33:179–97.
- Hsu LC, Moraru CI. Quantifying and mapping the spatial distribution of fluence inside a pulsed light treatment chamber and various liquid substrates. *J Food Eng.* 2011;103(84-91).
- Huffman DE, Slifko TR, Salisbury K, Rose JB. Inactivation of bacteria, virus and Cryptosporidium by a point-of-use device using pulsed broad spectrum white light. *Water Res.* 2000;34(9):2491–8.
- Hugas M, Tsigarida E. Pros and cons of carcass decontamination: The role of the European Food Safety Authority. *Meat Sci.* 2008;78(1-2):43–52.
- Jun S, Irudayaraj J, Demirci A, Geiser D. Pulsed UV-light treatment of corn meal for inactivation of Aspergillus niger spores. *Int J Food Sci Technol.* 2003;38:883–8.

LITERATURVERZEICHNIS

- Jungfer C. Einfluss der UV-Desinfektion auf molekulare Reparaturmechanismen bei Bakterien im Trinkwasser. [Dissertation Dr. Ing.] Karlsruhe: Univ. Fridericiana Karlsruhe; 2007.
- Kao Y, Saxena C, Wang L, Sancar A, Zhong D. Direct observation of thymine dimer repair in DNA by photolyase. *Proc Natl Acad Sci.* 2005;102(45).
- Keklik NM, Demirci A, Puri VM. Inactivation of *Listeria monocytogenes* on unpackaged and vacuum-packaged chicken frankfurters using pulsed UV-light. *J Food Sci.* 2009;74(8):431–9.
- Keklik NM, Demirci A, Puri VM. Decontamination of unpackaged and vacuum-packaged boneless chicken breast with pulsed ultraviolet light. *Poult Sci.* 2010;89(3):570–81.
- Koutchma TN, Forney LJ, Moraru CI. *Ultraviolet Light in Food Technology: Principles and Applications.* 1. Aufl. Boca-Raton, Florida: CRC Press, Taylor & Francis Group; 2009.
- Kramer B, Wunderlich J, Muranyi P. Pulsed Light Decontamination of Endive Salad and Mung Bean Sprouts and Impact on Color and Respiration Activity. *J Food Prot.* 2015;78(2):340–8.
- Kramer B, Wunderlich J, Muranyi P. Recent findings in pulsed light disinfection. *J Appl Microbiol.* 2017;122(4):830–56.
- Lasagabaster A, Martinez de Marañon I. Survival and growth of *Listeria innocua* treated by pulsed light technology: Impact of post-treatment temperature and illumination conditions. *Food Microbiol.* 2014;41:76–81.
- Laukkanen R, Martínez PO, Siekkinen K-M, Ranta J, Maijala R, Korkeala H. Contamination of carcasses with human pathogenic *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 originates from pigs infected on farms. *Foodborne Pathog Dis.* 2009;6(6):681–8.
- Levy C, Aubert X, Lacour B, Carlin F. Relevant factors affecting microbial surface decontamination by pulsed light. *Int J Food Microbiol.* 2012;152(3):168–74.
- Leyman B, Boyen F, Verbrugghe E, van Parys A, Haesebrouck F, Pasmans F. Vaccination of pigs reduces *Salmonella Typhimurium* numbers in a model mimicking pre-slaughter stress. *Vet J.* 2012;194(2):250–2.
- Liu N, Zhu Q, Zeng X, Yang B, Liang M, Hu P, He L, Deng L, Liang C, Zhang R, Zhou J. Influences of pulsed light-UV treatment on the storage period of dry-cured meat and shelf life prediction by ASLT method. *J Food Sci Technol.* 2019;56(4):1744–56.
- Luksiene Z, Gudelis V, Buchovec I, Raudeliuniene J. Advanced high-power pulsed light device to decontaminate food from pathogens: effects on *Salmonella typhimurium* viability in vitro. *J Appl Microbiol.* 2007;103(5):1545–52.
- MacGregor SJ, Rowan NJ, McIlvaney L, Anderson JG, Fouracre RA, Farish O. Light inactivation of food-related pathogenic bacteria using a pulsed power source. *Lett Appl Microbiol.* 1998;27:67–70.

LITERATURVERZEICHNIS

- Marquenie D, Geeraerd AH, Lammertyn J, Soontjens C, Van Impe, J. F., Michiels CW, Nicolai BM. Combinations of pulsed white light and UV-C or mild heat treatment to inactivate conidia of *Botrytis cinerea* and *Monilia fructigena*. *Int J Food Microbiol*. 2003;85:185–96.
- Massier S, Rincé A, Maillot O, Feuilloley MGJ, Orange N, Chevalier S. Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to a pulsed light-induced stress. *J Appl Microbiol*. 2012;112:502–11.
- Massier S, Bouffartigues E, Rincé A, Maillot O, Feuilloley MGJ, Orange N, Chevalier S. Effects of a pulsed light-induced stress on *Enterococcus faecalis*. *J Appl Microbiol*. 2013;114(1):186–95.
- Matallana-Surget S, Wattiez R. Impact of Solar Radiation on Gene Expression in Bacteria. *Proteomes*. 2013;1(2):70–86.
- McDonald KF, Curry RD, Clevenger TE, Brazos BJ, Unklesbay K, Eisenstark A, Baker S, Golden J, Morgan R. The development of photosensitized pulsed and continuous ultraviolet decontamination techniques for surfaces and solutions. *IEEE T Plasma Sci*. 2000;28(1):89–96.
- McLeod A, Hovde Liland K, Haugen J-E, Sørheim O, Myhrer KS, Holck AL. Chicken fillets subjected to UV-C and pulsed UV light: Reduction of pathogenic and spoilage bacteria, and changes in sensory quality. *J Food Saf*. 2018;38(1):e12421.
- Mitchell DL, Jen J, Cleaver JE. Sequence specificity of cyclobutane pyrimidine dimers in DNA treated with solar (ultraviolet B) radiation. *Nucleic acids Res*. 1992;20(2):225–9.
- NACMCF. Requisite Scientific Parameters for Establishing the Equivalence of Alternative Methods of Pasteurization. *J Food Prot*. 2006;69(5):1190–216.
- Nesbakken T, Iversen T, Eckner K, Lium B. Testing of pathogenic *Y. enterocolitica* in pig herds based on the natural dynamic of infection. *Int J Food Microbiol*. 2006;111:99–104.
- Nicorescu I, Nyugen B, Chevalier S, Orange N. Effects of pulsed light on the organoleptic properties and shelf-life extension of pork and salmon. *Food Control*. 2014;44:138-45.
- Otaki M. Inactivation differences of microorganisms by low pressure UV and pulsed xenon lamps. *Water SciTechnol*. 2003;47(3):185–90.
- Ozer NP, Demirci A. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* inoculated on raw salmon fillets by pulsed UV-light treatment. *Int J Food Sci Technol*. 2006;41(4):354–60.
- Palmieri L, Cacace D. High intensity pulsed light technology. In: Sun D-W, *Emerging technologies for food processing*. 1. Aufl.: Elsevier; 2005. p. 279–306.
- Paskeviciute E, Buchovec I, Luksiene Z. High-Power pulsed light for decontamination of chicken from food pathogens: a study on antimicrobial efficiency and organoleptic properties. *Journal of Food Safety* 2011;31(1):61–8.

LITERATURVERZEICHNIS

- Rajkovic A, Smigic N, Uyttendaele M, Medic H, Zutter L de, Devlieghere F. Resistance of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Campylobacter jejuni* after exposure to repetitive cycles of mild bactericidal treatments. *Food Microbiol.* 2009;26(8):889–95.
- Rajkovic A, Tomasevic I, Smigic N, Uyttendaele M, Radovanovic R. Pulsed UV light as an intervention strategy against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 on the surface of a meat slicing knife. *J Food Eng.* 2010;100:446–51.
- Rajkovic A, Tomasevic I, Meulenaer BD, Devlieghere F. The effect of pulsed UV light on *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxin A on sliced fermented salami and its chemical quality. *Food Control.* 2017;73:829–37.
- Ramos-Villarroel AY, Aron-Maftei N, Martin-Belloso O, Soliva-Fortuny R. Influence of spectral distribution on bacterial inactivation and quality changes of fresh-cut watermelon treated with intense light pulses. *Postharvest Biol Technol.* 2012;69:32–9.
- RICHTLINIE 1999/3/EG des EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 22. Februar 1999 über die Festlegung einer Gemeinschaftsliste von mit ionisierenden Strahlen behandelten Lebensmitteln und Lebensmittelbestandteilen. *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften.* 13.03.1999;L66/24
- Robert Koch-Institut (RKI). Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2017. 2018.
- Rowan NJ, MacGregor SJ, Anderson JG, Fouracre RA, McIlvaney L, Farish O. Pulsed-Light Inactivation of Food-Related Microorganisms. *Appl Environ Microbiol.* 1999;65(3):1312–5.
- Sauer A, Carmen I. Moraru. Inactivation of *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Escherichia coli* O157:H7 in Apple Juice and Apple Cider, Using Pulsed Light Treatment. *J Food Prot.* 2009;72(5): 937-44.
- Scherer K, Szabó I, Rösler U, Appel B, Hensel A, Nöckler K. Time Course of Infection with *Salmonella* Typhimurium and Its Influence on Fecal Shedding, Distribution in Inner Organs, and Antibody Response in Fattening Pigs. *J Food Prot.* 2008;71(4):699–705.
- Seidler T, Alter T, Krüger M, Fehlhaber K. Transport stress - consequences for bacterial translocation, endogenous contamination and bactericidal activity of serum of slaughter pigs. *Berl Münch Tierärztl Wschr.* 2001;114:375–7.
- Setlow P. I will survive: Protecting and repairing spore DNA. *J Bacteriol.* 1992:2737–41.
- Slieman TA, Nicholson WL. Artificial and Solar UV Radiation Induces Strand Breaks and Cyclobutane Pyrimidine Dimers in *Bacillus subtilis* Spore DNA. *Appl Environ Microbiol.* 2000;66(1):199–205.
- Sohaib M, Anjum FM, Arshad MS, Rahman UU. Postharvest intervention technologies for safety enhancement of meat and meat based products; a critical review. *J Food Sci Technol.* 2016;53(1):19–30.

LITERATURVERZEICHNIS

Sommers CH, Cooke PH, Fan X, Sites JE. Ultraviolet light (254 nm) inactivation of *Listeria monocytogenes* on frankfurters that contain potassium lactate and sodium diacetate. *J Food Sci.* 2009;74(3):M114-9.

Statista. Anzahl der Schweineschlachtungen in Deutschland in den Jahren 1993 bis 2018; zitiert vom 21.04.2019

<https://de.statista.com/statistik/daten/studie/459142/umfrage/schweineschlachtungen-in-deutschland/>.

Statista. Pro-Kopf-Konsum von Schweinefleisch in Deutschland in den Jahren 1991 bis 2018 (in Kilogramm) zitiert vom 21.04.2019.

<https://de.statista.com/statistik/daten/studie/38140/umfrage/pro-kopf-verbrauch-von-schweinefleisch-in-deutschland/>.

Takeshita K, Shibato J, Sameshima T, Fukunaga S, Seiichiro I, Arihara K, Itoh M. Damage of yeast cells induced by pulsed light irradiation. *Int J Food Microbiol.* 2003;85:151–8.

Tomasevic I, Rajkovic A. The Sensory Quality of Meat, Game, Poultry, Seafood and Meat Products as Affected by Intense Light Pulses: A Systematic Review. *Procedia Food Sci.* 2015;5:285–8.

Tomasevic I. The effect of intense light pulses on the sensory quality and instrumental color of meat from different animal breeds. *Bio Anim Husb.* 2015;31(2):273–81.

Uesugi AR, Woodling SE, Moraru CI. Inactivation Kinetics and Factors of Variability in the Pulsed Light Treatment of *Listeria innocua* Cells. *J Food Prot.* 2007;70(11):2518–25.

Uesugi AR, Moraru CI. Reduction of *Listeria* on Ready-to-Eat Sausages after Exposure to a Combination of Pulsed Light and Nisin. *J Food Prot.* 2009;72(2):347–53.

Vanantwerpen G, Berkvens D, Zutter L de, Houf K. Assessment of factors influencing the within-batch seroprevalence of human enteropathogenic *Yersinia* spp. of pigs at slaughter age and the analogy with microbiology. *Prev Vet Med.* 2017;137(Pt A):93–6.

Verordnung über die Behandlung von Lebensmitteln mit Elektronen-, Gamma- und Röntgenstrahlen, Neutronen oder ultravioletten Strahlen (LMBestV, 14.12.2000) in der Fassung der Bekanntmachung vom 15. Februar 2019 (BGBl. I.S.116).

VERORDNUNG (EG) Nr. 852/2004 des EUROPÄISCHEN DES PARLAMENTS UND DES RATES vom 29. April 2004 über Lebensmittelhygiene. *ABl.* 30.04.2004; L139/1.

VERORDNUNG (EG) Nr. 853/2004 des EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs. *ABl.* 30.04.2004; L139/55.

VERORDNUNG (EG) Nr. 854/2004 des EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 29. April 2004 mit besonderen Verfahrensvorschriften für die amtliche Überwachung von zum menschlichen Verzehr bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs. *ABl.* 30.04.2004; L139/206.

LITERATURVERZEICHNIS

VERORDNUNG (EG) Nr. 2073/2005 DER KOMMISSION vom 15. November 2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel. ABl. 22.12.2015;L338/1

VERORDNUNG (EG) Nr. 101/2013 DER KOMMISSION vom 4. Februar 2013 über die Verwendung von Milchsäure zur Verringerung mikrobiologischer Oberflächenverunreinigungen von Rinderschlachtkörpern. ABl. 05.02.2013;L34/1.

VERORDNUNG (EU) Nr. 2015/ 2283 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES - vom 25. November 2015 - über neuartige Lebensmittel, zur Änderung der Verordnung (EU) Nr. 1169/ 2011 des Europäischen Parlaments und des Rates und zur Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 258/ 97 des Europäischen Parlaments und des Rates und der Verordnung (EG) Nr. 1852/ 2001 der Kommission 2015. ABl. 11.12.2015;L327/1

Wambura P, Verghese M. Effect of pulsed ultraviolet light on quality of sliced ham. LWT - Food Sci Technol. 2011;44(10):2173–9.

Wang T, MacGregor SJ, Anderson JG, Woolsey GA. Pulsed ultra-violet inactivation spectrum of *Escherichia coli*. Water Res. 2005;39(13):2921–5.

Weber S. Light-driven enzymatic catalysis of DNA repair: a review of recent biophysical studies on photolyase. Biochem Biophys Acta. 2005;1707(1):1–23.

Wekhof A. Disinfection with flash lamps. J Pharm Sci Technol. 2000;54(3).

Wekhof A, Trompeter F-J, Franken O. Pulsed UV Disintegration (PUVD): a new sterilisation mechanism for packaging and broad medical-hospital applications. Proceedings of the 1st International Conference on Ultraviolet Technologies; 2001 June 14-18, Washington D.C., USA.

Wong E, Linton RH, Gerrard DE. Reduction of *Escherichia coli* and *Salmonella senftenberg* on pork skin and pork muscle using ultraviolet light. Food Microbiol. 1998;15(4):415–23.

Woodling SE, Moraru CI. Influence of Surface Topography on the Effectiveness of Pulsed Light Treatment for the Inactivation of *Listeria innocua* on Stainless-steel Surfaces. Food Microbiol Saf. 2005;70(7):M345-M351.

Wuytack EY, Phuong LDT, Aertsen A, Reyns KMF, Marquenie D, Ketelaere B de, Masschalck B, van Opstal I, Diehls AMJ, Michiels CW. Comparison of Sublethal Injury Induced in *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium by Heat and by Different Nonthermal Treatments. J Food Prot. 2003;66(1):31–7.

Yaun BR, Sumner SS, Eifert JD, Marcy JE. Response of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 to UV Energy. J Food Prot. 2003;66(6):1071–3.

ANHANG

ANHANG

Tabelle 2: Übersicht der wissenschaftlichen Publikationen, in denen Fleisch oder Fleischerzeugnisse mit GL behandelt wurden (modifiziert nach HEINRICH et al.2016, ausführlich mit Parametereinstellungen)

Lebensmittel	Bakterium	Parameter	Fluence (J/cm²)	Reduktion (log)	Quelle
rohes Fleisch					
Hähnchenfleisch	S. Typhimurium	t _{tot} =15 s 60 s t=360 µs f=3 Hz F=1,27 J/cm²/Puls d=5 cm	n.b.	1,9 2,4	KEKLIK et al. 2010
	S. Typhimurium <i>L. monocytogenes</i>	t=112 µs	5,4	2,0 2,0	GUDELIS und LUKŠIENĖ 2010
	S. Typhimurium DS88 <i>L. monocytogenes</i> ATCCCL3C7644 aerobe mesophile Gesamtkeimzahl	t _{tot} =0-200 s t=112 µs f=5 Hz	5,4	2,0 2,4 2,0	PASKEVICIUTE et al. 2011
	<i>C. jejuni</i> <i>E. coli</i> ATCC25922 S. Enteritidis ATCC13076 aerob mesophile Gesamtkeimzahl Enterobacteriaceae	d=6,5 cm	0,192	0,8 1,0 1,3 1,8 1,3	HAUGHTON et al. 2011

ANHANG

Lebensmittel	Bakterium	Parameter	Fluence (J/cm²)	Reduktion (log)	Quelle
rohes Fleisch					
Hähnchenfleisch	<i>S. Enteritidis</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>S. aureus</i> EHEC <i>Pseudomonas</i> ssp. <i>B. thermospacta</i> ESBL-produzierende <i>E.coli</i> <i>C. divergens</i>	d=6,5 cm	1,25-18	2,4 2,0 3,0 2,9 3,0 3,0 2,8 1,8	MCLEOD et al. 2018
Schweinefleisch	aerobe mesophile Gesamtkeimzahl <i>P. fluorescens</i>	$t_{\text{tot}}=1-30$ s $t=300$ μ s $f=1$ Hz $d=3$ cm	3-30	1,0 1,0	NICORESCU et al. 2014
Rind-, Hähnchen-, Schweine-, Puten-, Reh-, Känguruh- und Kaninchenfleisch	n.b.	$t_{\text{tot}}=1-10$ s $t=300$ μ s $f=1/2$ s $F=3,4$ J/cm²/Puls $d=6$ cm (oben und unten) $d=10$ cm (seitlich)	3,4 oder 17	n.b.	TOMASEVIC et al. 2015

ANHANG

Lebensmittel	Bakterium	Parameter	Fluence (J/cm²)	Reduktion (log)	Quelle
verpacktes rohes Fleisch					
vakuumverpackte Hähnchenbrust	S. Typhimurium	t _{tot} =30 s 60 s t=360 µs f=3 Hz F=1,27 J/cm²/Puls d=5 cm	n.b.	1,9 2,4	KEKLIK et al. 2010
Fleischerzeugnisse					
Chicken Wings	Salmonella ssp.	n.b.	n.b.	~2	DUNN et al. 1995
Frankfurter	L. innocua			~2	
Fleischerzeugnisse					
Hähnchen-Frankfurter	L. monocytogenes Scott A	t _{tot} =5 s 60 s t=360 µs f=3 Hz F=1,27 J/cm²/Puls d=5 cm	n.b.	0,8 1,9	KEKLIK et al. 2009

ANHANG

Lebensmittel	Bakterium	Parameter	Fluence (J/cm ²)	Reduktion (log)	Quelle
Wiener Würste	<i>L. innocua</i> FSL C2-008	t=360 µs f=3 Hz d=5 cm	9,4	1,4	UESUGI und MORARU 2009
geschnittener Schinken	n.b.	t _{tot} =60-120 s t=360 µs f=3 Hz F=0,14 J/cm ² d=4,5-14,6 cm	n.b.	n.b.	WAMBURA und VERGHESE 2011
verzehrshfertige Salchichón	<i>L. monocytogenes</i> <i>S. Typhimurium</i>	t=250 µs f= 0,7 J/cm ²	11,9	1,8 1,5	GANAN et al. 2013
verzehrshfertige Lende	<i>L. monocytogenes</i> <i>S. Typhimurium</i>			1,6 1,7	

ANHANG

Lebensmittel	Bakterium	Parameter	Fluence (J/cm²)	Reduktion (log)	Quelle
Fleischerzeugnisse					
Schweinebraten	aerobe mesophile Gesamtkeimzahl <i>P. fluorescens</i>	$t_{tot}=1-30\text{ s}$ $t=300\text{ }\mu\text{s}$ $f=1\text{ Hz}$ $d=3\text{ cm}$	3-30	1,0 1,0	NICORESCU et al. 2014
Kochschinken, Speck, Pariser Wurst, Parmaschinken, fermentierte Wurst	n.b.	$t_{tot}=1-10\text{ s}$ $t=300\text{ }\mu\text{s}$ $f=1/2\text{ s}$ $F=3,4\text{ J/cm}^2/\text{Puls}$ $d=6\text{ cm}$ (oben und unten) $d=10\text{ cm}$ (seitlich)	3,4 oder 17	n.b.	TOMASEVIC und RAJKOVIC 2015
geschnittene Salami	<i>E. coli</i> O157:H7 <i>L. monocytogenes</i> <i>S. Typhimurium</i> <i>S. aureus</i>	$t=300\text{ }\mu\text{s}$ $f=3\text{ J/cm}^2$ $d=6\text{ cm}$ (oben und unten) $d=10\text{ cm}$ (seitlich)	3	2,2 2,3 2,3 2,1	RAJKOVIC et al. 2017
kaltgeräuchertes Schweinefleisch	Microkokken und Staphylokokken Schimmelpilze und Hefen Milchsäurebakterien <i>E. coli</i>	$t_{tot}=5\text{ min}$ $d=10\text{ cm}$ $f=1\text{ Hz}$	0,00000078	1,2 0,5 -0,1 n.b.	LIU et al. 2019

ANHANG

Lebensmittel	Bakterium	Parameter	Fluence (J/cm²)	Reduktion (log)	Quelle
verpackte Fleischerzeugnisse					
vakuumverpackte Hähnchen-Frankfurter	<i>L. monocytogenes</i> Scott A	t _{tot} =60 s t=360 µs f=3 Hz F=1,27 J/cm²/Puls d=5 cm	n.b.	1,9	KEKLIK et al. 2009
vakuumverpackte Schinkenscheiben	<i>L. monocytogenes</i>	t: 250 µs f=3-4/min F: 0,7 J/cm²	8,4	1,8	HIERRO et al. 2011
vakuumverpackte Bolognascheiben	<i>L. monocytogenes</i>	t: 250 µs f=3-4/min F: 0,7 J/cm²	8,4	1,1	
vakuumverpacktes Rindercarpaccio	<i>L. monocytogenes</i> Scott A CIP 103575, Serotype 4b <i>E. coli</i> O157:H7 CECT 4972 <i>S. Typhimurium</i>	t=250 µs F=0,175 J/cm²	8,4 und 11,9	0,9 1,2 1,0	HIERRO et al. 2012
Fleischhaut					
Hähnchenhaut	<i>C. jejuni</i> <i>E. coli</i> ATCC25922 <i>S. Enteritidis</i> ATCC13076 Enterobacteriaceae	d=6,5 cm	0,192	0,6 0,8 1,0 0,3	HAUGHTON et al. 2011

DANKSAGUNG

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die an der Realisierung dieser Arbeit beteiligt waren und mir somit die Vollendung meiner Promotion ermöglicht haben.

Zunächst danke ich Prof. Dr. Peggy G. Braun für die Bereitstellung und wissenschaftliche Betreuung dieser aktuell relevanten und interessanten Promotionsthematik sowie für ihre kontinuierlichen Ratschläge, die maßgeblich zur Qualität dieser Dissertation beigetragen haben.

Besonders herzlich bedanken möchte ich mich bei:

- meiner Projektkoordinatorin Dr. Claudia Wiacek für die gute und zwischenmenschlich überaus angenehme Zusammenarbeit. Sie stand mir von Anfang an mit Rat und Tat zur Seite und gab öfter dringend benötigte Anstöße in die entsprechende Richtung.
- Steffi Berft und TÄ Maike Moritz für die tatkräftige Unterstützung im Labor.
- Dr. Martin Köthe für seine Hilfsbereitschaft bei der statistischen Auswertung meiner Versuchsergebnisse.
- meinen restlichen Kollegen am Institut für Lebensmittelhygiene für die stete Anspornung und die hervorragende Zusammenarbeit.
- Prof. Dr. Stefan Töpfl, Dr. Claudia Siemer, Melanie Wieschebrock, Dr. Bastian Dörrbecker und Hanna Stechmann vom Deutschen Institut für Lebensmitteltechnik e.V. (Quakenbrück) für die Bereitstellung des GL-Gerätes und die anregenden Gespräche während zahlreicher Projekttreffen.
- meiner Familie und meinen Freunden für die immer währende Unterstützung und aufmunternden Worte.

Diese Arbeit ist Teil eines Forschungsvorhabens, welches vom Forschungsbereich der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) über die AiF (AiF 17877) gefördert wurde.